

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



Diplomová práce

Bioetika IV - chimérizmus

a mikrochimérizmus

Vedoucí diplomové práce: PhDr. Zdeňka Kudláčková, Ph.D.

Hradec Králové, 2015

Katarína Kovalská

PodĎakovanie

Moja vrelá vĎaka patrí predovšetkým mojej školiteľke a vedúcej diplomovej práce, PhDr. Zdeňke Kudláčkovej, Ph.D. za jej nesmiernu trpezlivosť, ochotu vždy pomôcť, láskavosť, no najmä za odborné rady tak potrebné k dokončeniu tejto práce.

Prehlasujem, že táto diplomová práca je mojím pôvodným autorským dielom, ktoré som vypracovala na základe svojich vedomostí. Všetká použitá literatúra a ďalšie zdroje, z ktorých som počas zpracovania vychádzala, sú uvedené v zozname použitej literatúry a v práci sú riadne ocitované. Práca nebola použitá k získaniu iného, či rovnakého titulu.“

V Hradci Králové

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Autor: Katarína Kovalská

Názov práce: Bioetika IV - chimérizmus a mikrochimérizmu

Vedúci diplomovej práce: PhDr. Zdeňka Kudláčková, Ph.D.

Cieľ práce: Hlavným dôvodom vypracovania tejto diplomovej práce je popísať základné bioetické aspekty či problémy, ktoré so sebou prináša využitie chimérizmu a mikrochimérizmu ako na výskumnej pôde tak v klinickej praxi. Chimérizmus, mikrochimérizmus zasahujú svojou problematikou do rôznych sfér ľudského života a preto sme v našej práci upriamili pozornosť najmä na výskum využívajúci týchto jedincov na prenatálnej no i postnatálnej úrovni a na tému xenotransplantácií.

Hlavné poznatky: Podstata chimérizmu a mikrochimérizmu je založená na vytváraní embryí ale i dospelých jedincov, či už zvieracích, ľudských, poprípade ich kombinácií, ktorí obsahujú genotypovo odlišné sady buniek, tkanív, orgánov pochádzajúce z druhovo príbuzného, ale i odlišného organizmu. V súvislosti s tým teda vyvstáva veľká rada bioetických znepokojení týkajúcich sa morálneho statusu týchto jedincov, ich identity a práv, no i bezpečnosti a ekonomickej stránky takýchto metód, etiky využitia ľudských embryonálnych kmeňových buniek pri ich tvorbe, etiky práv zvierat v samotnom výskume, tvorby verejnej mienky obyvateľstva i pohľadu hlavných náboženských smerov na danú tému. Z hľadiska bioetického zhodnotenia týchto problémov je taktiež relevantné nazerať na už konkrétne vytvorený legislatívny rámec nastolený v danom štáte, ako formu výstupu verejnej či vedeckej bioetickej diskusie na danú tému prebiehajúcej v konkrétnom štáte.

Záver: Na otázku morálneho opodstatnenia využitia chimérizmu, mikrochimérizmu nie je možné nazerať komplexne, pretože sami o sebe môžu prinášať osobitné, pre konkrétny prípad dokonca ojedinelé bioetické problémy či spory a tak ich posúdenie závisí prípad od prípadu.

Kľúčové slová: bioetika, chimérizmus, mikrochimérizmus, bioetické aspekty chimérizmu a mikrochimérizmu, legislatíva jednotlivých štátov

ABSTRACT

Charles University in Prague, Faculty of Pharmace in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Author: Katarína Kovalská

Title of Thesis: Bioethics IV - chimerism and microchimerism

Supervisor: PhDr. Zdeňka Kudláčková, Ph.D.

Background: The main reason for the development of this master thesis is to describe basic bioethical aspects even problems, raised by the use of chimerism and microchimerism in the research field and also in clinical practise. Chimerism, microchimerism affect various spheres of human life, and therefore in our thesis, we draw our attention maily to research using these subject in prenatal but also in postnatal stage of the development and to xenotransplantations.

Main findings: Nature of chimerism and microchimerism is based on the formation of embryos and also adults subjects, either animal or human origin or their combination, which contain genotypically distinct sets of cells, tissues and organs derived from species - related or non - related organism. Wide range of bioethical concerns is connected with this issue, for example moral status of these individuals, their true identity and their rights, safety and economics of such methods, ethical use of human embryonic stem cells in the creation of these subjects, ethics of animal rights in the research, the formation of public opinion and the major world religion's perspectives. In terms of bioethics evaluation of this issue it is also relevant to look at its specifically created legislative framework of the country, as a form of outcome of public or scientific bioethical debate in a particular state.

Conclusion: The question of moral justification of the use of chimerism, microchimerism cannot be viewed comprehensively, because they themselves can bring specific, for some cases even unique bioethical problems or disputes, so their assessment depends from case to case

Key words: bioethics, chimerism, microchimerism, bioethical aspects of chimerism and microchimerism, national legislation

OBSAH

1. ÚVOD	1
2. ZADANIE - CIEĽ PRÁCE	2
3. HLAVNÁ ČASŤ	3
3.1 Bioetika	3
3.1.1 Definícia pojmov etika, morálka	3
3.1.2 Stručná charakteristika lekárskej etiky	5
3.1.3 Vývoj lekárskej etiky a bioetiky	6
3.1.3.1 Spoločné historické základy lekárskej etiky a bioetiky	6
3.1.3.2 Vývoj bioetiky ako samostatnej vednej disciplíny	9
3.1.3.3 Stručný vývoj lekárskej etiky a bioetiky v Českej republike	11
3.1.4 Charakteristika bioetiky ako nového vedeckého odboru	12
3.1.5 Základné bioetické východiská	13
3.1.5.1 Deontologické východiská bioetiky	14
3.1.5.2 Teologické východiská bioetiky	15
3.1.5.3 Ostatné bioetické východiská	17
3.1.6 Najznámejšie bioetické centrá vo svete	18
3.2 Chimérizmus a mikrochimérizmus	21
3.2.1 Definícia pojmu chimérizmus	21
3.2.2 Prirodzene sa vyskytujúci chimérizmus	23
3.2.2.1 Chimérizmus v rastlinách	23
3.2.2.2 Chimérizmus v živočíšnej ríši	23
3.2.2.3 Chimérizmus v ľudskej populácii	24
3.2.3 Umelo vytvorený chimérizmus	26
3.2.3.1 Metóda tvorby chimér cez embryonálne kmeňové bunky	26
3.2.3.2 Využitie umelo vytvoreného chimérizmu v rôznych oblastiach	29
3.2.4 Definícia pojmu Mikrochimérizmus	34
3.2.5 Prirodzený mikrochimérizmus	35
3.2.6 Umelo navodený mikrochimérizmus	38
3.2.6.1 Využitie mikrochimérizmu vo výskume	39
3.2.6.2 Využitie mikrochimérizmu pri xenotranslantácii buniek či tkanív	40
3.3 Bioetika chimérizmu a mikrochimérizmu	42

3.3.1	Bioetika vytvárania chimérických i mikrochimérických jedincov vo výskume	43
3.3.1.1	Základné identifikované bioetické aspekty	43
3.3.1.2	Navrhnuté etické zásady chimérického poprípadе mikrochimérického výskumu	55
3.3.1.3	Legislatíva krajín týkajúca sa chimérického či mikrochimérického výskumu	59
➤	Európska únia	59
➤	Švajčiarsko	62
➤	Kanada	63
➤	Japonsko	64
➤	Južná Kórea	65
➤	Austrália	65
➤	USA	66
3.3.2	Bioetika xenotransplantácií	68
3.3.2.1	Základné bioetické aspekty xenotransplantácií	69
3.3.2.2	Situácia xenotransplantácií v jednotlivých krajinách a ich platná legislatíva	77
➤	Kanada	77
➤	Európska únia	78
➤	USA	81
➤	Austrália	82
4.	DISKUSIA	83
5.	ZÁVER	87
6.	POUŽITÉ SKRATKY	88
7.	ZOZNAM TABULIEK	89
8.	ZOZNAM OBRÁZKOV	89
9.	POUŽITÁ LITERATÚRA	90

ÚVOD

Možnosť zmiešavania genetického materiálu pochádzajúceho od dvoch jedincov a vytvárania tak genotypovo odlišných buniek ba dokonca i jedincov je súčasťou v poslednej dobe tak rozoberanej bioetickej témy chimérizmu a mikrochimérizmu.

Problematika biologického a medicínskeho výskumu zahrňujúceho techniky vytvárania chimér či mikrochimér a ich následnej implementácii do klinickej praxe je v dnešnej dobe vďaka vedeckým pokrokom mimoriadne aktuálna a preto je diskutovaná nielen vo vedeckej spoločnosti, politickom prostredí či v oblasti bioetiky ale aj širokou verejnosťou. Do úvahy pripadá i zmiešavanie ľudského a zvieracieho biologického materiálu, čo určitým spôsobom napadá naše pôvodné chápanie odlišností medzi ľudskou a zvieracou ríšou, vytvára priestor pre zamyslenie sa nad definíciou ľudského druhu, ako istým spôsobom nadradeného druhu, a otvára tak nové otázky ohľadom integrity ľudskej rasy a príslušnosti k danej ríši.

Pole výskumu a využitia chimérizmu a mikrochimérizmu je nesmierne široké, počínajúc možnosťou vytvárania chimérických embryí spojením ľudského a zvieracieho materiálu za účelom sledovania patofyziológie niektorých chorôb a ich následnej možnej terapie a končiac v neposlednej rade vytváraním takých geneticky pozmenených zvieracích subjektov, ktorí by mohli byť vhodnými kandidátmi na xenotransplantácie tkanív či orgánov zo zvieracieho do ľudského tela, čím by sa riešila potreba akútnej transplantácie, ale i nedostatku ľudských orgánov.

Znepokojenie laickej obce, nedostatok informácií a chápania možných dopadov takýchto techník vytvára potrebu bioetickej diskusie nad komplexnými etickými a legálnymi otázkami, nutnosť identifikácie podstatných bioetických okruhov a zjednotenia terminológie vo výskume i zákonodárstve (Taupitz, Weschka, 2009).

1. ZADANIE - CIEĽ PRÁCE

Cieľom tejto diplomovej práce bolo identifikovať a popísať základné bioetické problémy, ktoré sa vynárajú v súvislosti s použitím chimérizmu a mikrochimérizmu vo výskumnej oblasti ale aj praxi.

Svoju pozornosť sme venovali nielen na súhrn všeobecne platných bioetických dilém, ktoré s touto témou výhradne súvisia, ale i stručnom uvedení, v ktorých prípadoch sa vynárajú nové, unikátne otázky.

Okrem toho sme sa zamerali i na aktuálny legislatívny stav a to nie len Českej republiky ale i vybraných štátov, keďže priamym spôsobom koreluje s úrovňou riešenia bioetických otázok týkajúcich sa tejto problematiky v konkrétnom štáte.

2. HLAVNÁ ČASŤ

2.1 *Bioetika*

2.1.1 Definícia pojmov etika, morálka

Ponímanie toho, čo v dejinách ľudstva je etické a čo za etické nemožno považovať súviselo s vývojom spoločnosti ako takej. Etika je teda stará ako ľudstvo samo, je súčasťou kultúry, ktorá odnepamäti ovplyvňovala vzorce chovania, myslenia jednotlivca i skupiny.

Etymológia tohto slova a jemu príbuzných termínov má korene v gréčtine, latinčine a staroslovienčine (Kutnohorská, 2007).

- grécky pôvod: slovo „ethos“ pomenúvalo spôsob chovania a zmýšľania osôb. Kořenek (2004) vníma ethos ako mravné zakotvenie vlastného života človeka, ktoré je výsledkom stále prebiehajúceho rozhovoru s vlastným svedomím. Je pre neho akousi reflexiou na výzvu neustále sa meniacej morálky súčasnej spoločnosti.
- latinský pôvod: latinské „mos“ vzniklo Cicerovým prekladom gréckeho slova „ethos“ či „ethikos“ (Haškovcová, 2002) a stalo sa základom pre pojem morálka. Pôvodne označovala vôľu, ktorá bola uložená bohmi pre ľudí, teda predpisy a zákony, no neskôr nadobudla i nový rozmer označujúci mravné chovanie jedinca.
- staroslovenský pôvod: české a slovenské slovo „mrav“, ktorého základ nachádzame v pravoslávnom „nrov“ s obdobou v staroslovienčine slovom „nрав“ označuje zvyk, tradíciu, obyčaj, pravidlo, obdobne ako „móres“ z latinského „mos“ či „moralis“ (Kutnohorská, 2007).

Pojmy etika a morálka bývajú i dnes často zamieňané a používané ako synonymá v hovorovom jazyku no i v odbornej literatúre (Kuře et al., 2012). Etika a morálka sú vzájomne prepojenými celkami, kde morálka ako systém pravidiel a noriem opisuje chovanie a jednanie ľudí (Kořenek, 2004), určuje aké

chovanie je spoločensky žiadúce či nežiadúce, a tým dáva akýsi návod ako sa chovať mravne (Kutnohorská, 2007). Naproti tomu etika je vedecká disciplína, ktorej objektom je práve táto mravnosť, preto je teóriou morálky, jej zdrojom ba základom a túto morálku skúma (Kořenek, 2004). Významovo je preto hierarchicky nadradená morálke. Etika, tiež niektorými autormi nazývaná ako praktická filozofia, reprezentuje poznanie systémov ľudských hodnôt (Faggioni, 2012) a aspektov, ktoré sa na ich formovaní podieľajú, kým morálka dané hodnoty len popisuje, pomenúva. Mnohokrát etika začína tam, kde morálka končí, v situáciách kde niektoré formy morálky strácajú svoju platnosť alebo opodstatnenie, v situáciách nových či doposiaľ nediskutovaných, kedy hľadá nové metódy, koncepty a východiska (Kuře et al., 2012).

Na rôznych kontinentoch sa môžeme stretnúť s odlišnými etickými tradíciami. Tieto rozdiely súvisia s rôznym vývojom ekonomickej, politickej, kultúrnej a náboženskej situácie. Etika sa teda zaoberá otázkou prečo a za akých podmienok dochádzalo k vytváraniu, poprípade premene týchto hodnôt v minulosti aj v súčasnosti.

Pomerne obtiažná situácia nastáva pri zadefinovaní jednotlivých termínov popisujúcich konkrétne formy etiky spadajúcej do tematiky našej práce, pretože ich definície sa mnohokrát prelínajú, pričom existuje úzka súvislosť medzi ich obsahom (Haškovcová, 2002). Ošetrovateľská etika označovaná tiež ako „nursing ethics“ čerpala do polovice 20. storočia z etiky lekárskej, mala rovnaký pôvod avšak so zmenou postavenia ošetrovateľa vrámci ošetrovateľskej starostlivosti nadobudla nový, samostatný zmysel. Dnes vychádza predovšetkým z cieľov formulovaných v programe *Zdravie pre všetkých v 21. storočí* (Kutnohorská, 2007). Pojmy medicínska a lekárska etika sú vzájomne zastupiteľné, i keď prvý spomínaný evokuje germanizmus a nie je často používaný. V podobnom význame sa siaha po termíne zdravotná etika, ktorá vo svojej podstate zahŕňa problémy týkajúce sa etiky v zdraví a preto má v skutočnosti úplne iný, širší rozmer, či po výraze zdravotnícka etika, ktorá popisuje problémy týkajúce sa zdravotníctva, zdravotníckych systémov v danej krajine, štáte. Klinická etika a biomedicínska etika sú súčasťou bioetiky ako takej, klinická etika sa dotýka celkovo oblasti klinického výskumu, kým

biomedicínska etika je skôr súhrnný názov pre etiku ako vo výskume tak v liečbe pacientov (Haškovcová, 2002). Výrazy bioetika a lekárska etika sme v našej práci charakterizovali v samostatných kapitolách.

2.1.2 Stručná charakteristika lekárskej etiky

Lekárska etika patrí do skupiny spoločne označovanej výrazom „profesionálna etika“, podobne ako predchádzajúce definované pojmy. Ide o samostatnú vednú disciplínu zahŕňajúcu mravnú problematiku súvisiacu s výkonom lekárskeho povolania, ktorej hlavnou funkciou je najmä aplikácia platných etických záverov, noriem na oblasť medicíny (Haškovcová, 2002). Ako uvádza Kořenek (2004) vo svojom diele, jej cieľom je nielen súhrn všetkých vedomostí potrebných k danému výkonu, ale aj celoživotná výučba lekárov k životnej múdrosti, ľudskosti, láskavosti a maximálnej zodpovednosti za samotného pacienta. Všeobecne je jej úlohou:

- zdefinovať základné princípy etiky v medicíne
- posúdiť dilematické situácie nových konkrétnych prípadov nemajúce jednoznačné riešenie
- dozerať na chovanie, rozhodovanie sa lekára a odôvodnenosť jeho konania
- vhodným spôsobom formovať osobnosť lekára a jeho profesionálne vedomosti
- analyzovať novodobé poznatky a s nimi súvisiacu problematiku napríklad ľudskej reprodukcie, ľudského klonovania, embryológie, transplantológie, genetiky ale aj biotechnológií, eutanázie, či paliatívnej medicíny
- zabezpečiť funkčné vzťahy lekára s pacientmi aj kolegami

V roku 1979 spísali Beauchamp a Childress štyri základné piliere, na ktorých je lekárska etika postavená. Princípy sformulovali pomerne obširne tak,

aby sa dali použiť na rozsiahlu škálu jednotlivých prípadov a boli akceptované širokou verejnosťou (Vácha, Königová, Mauer, 2012). Ide o princípy:

- princíp druhému neškodiť - nonmaleficiencie, vyzýva lekára zamedziť možným rizikám v liečebnom no i diagnostickom a preventívnom procese
- princíp dobročinnosti - beneficiencie, pri ktorom by jednanie lekára malo vždy vychádzať zo záujmu o pacientov život a samotné zdravie. Spolu s prvým princípom boli sformulované už v Hippokratovej prísaha podľa zásady, kde zdravie nemocného je najvyšším zákonom.
- autonómie nemocného založenej na rešpektovaní pacientovej nezávislosti a slobodnej voľby. Umožňuje pacientovi podieľať sa v určitom rozsahu na vlastnom liečebnom pláne. Príkladom je existencia informovaného súhlasu či nesúhlasu
- princíp spravodlivosti v poskytovaní zdravotnej starostlivosti, ktorý hovorí o rovnomernosti poskytnutia zdravotnej starostlivosti každému bez ohľadu na ekonomické či geografické možnosti (Kořenek, 2004).

2.1.3 Vývoj lekárskej etiky a bioetiky

2.1.3.1 Spoločné historické základy lekárskej etiky a bioetiky

Lekárska etika ako istá podmnožina bioetiky je natoľko prepojená s touto disciplínou, že ani ich historické korene nemožno oddeliť, keďže do istého bodu ich vývoj prebiehal spoločne a i po oddelení bioetiky ako samostatnej vednej disciplíny sa tieto vedné odbory navzájom vždy ovplyvňovali. Ich historickým základom no i stále platnou a tradičnou súčasťou lekárskej etiky a bioetiky je práve deontologický model, kedy na prvom mieste pri rozhodovaní stojí povinnosť. Otázka morálneho konania je akousi formou poslušnosti voči zákonu, tradícii, norme, autorite. Etické chovania teda mali jasne vymedzené pravidlá, pričom ich prekročenie bolo vnímané ako neetické (Kořenek, 2004).

Vytvorením týchto mravných postulátov a ich uvedením do platnosti vznikali takzvané „deontologické kódexy“ reprezentujúce záväzok udelený lekárom a to nielen voči pacientom ale i kolegom a v neposlednom rade celej spoločnosti (Haškovcová, 2002). Ako prvé deontologické kódexy medicínskej etiky vytvárajúce podklad i pre súčasnú bioetiku bývajú označované Chammurapiho zákonník (z obdobia 1792 - 1750 pred naším letopočtom), ktorý obsahoval najmä spisy týkajúce sa odmien aj trestov pre lekárov a Hippokratova prísaha (zo 4. - 5. storočia pred naším letopočtom). Jej autorstvo je pripisované Hippokratovi a jeho žiakom a bola dlhé roky jediným zaväzujúcim kódexom. I napriek častým zmenám, obzvlášť v 20. storočí je dodnes platná. Jej text, predkladaný absolventom lekárskeho fakúlt medzi jednotlivými univerzitami, sa však v dnešnej dobe môže značne líšiť. Prísahu je možné z hľadiska obsahu dodnes rozdeliť na dve časti, a to prísľub spolupatričnosti s učiteľom a záväzok dodržiavať pravidlá určené lekárovi (Haškovcová, 2002).

Za začiatok histórie novodobej medicínskej etiky 20. storočia sa považuje práve obdobie okolo druhej svetovej vojny, pretože po jej skončení nasledoval tzv. Norimberský proces, ktorý bol reakciou spoločnosti na človeka dehonestujúce pokusy prebiehajúce v nacistickom Nemecku v štyridsiatych, päťdesiatych rokoch minulého storočia na väzňoch, telesne postihnutých osobách, ako aj príslušníkoch rómskej menšiny. Po jeho skončení bol v roku 1946 vydaný Norimberský kódex normatívneho charakteru. Bolo v ňom spísaných desať pravidiel pre biomedicínsky výskum na živých ľuďoch s dôrazom na úctu k jedincom bez ohľadu na vek, rasu, pohlavie, národnú či náboženskú príslušnosť a bol ním zavedený tzv. informovaný súhlas ako dobrovoľné vyjadrenie sa plne informovaného pacienta k priebehu, liečebného postupu, diagnózy či výskumu. Vošiel do platnosti svojím začlenením do Všeobecnej deklarácie ľudských práv Organizácie spojených národov - OSN z roku 1948 (Drozenová et al., 2010). O niečo neskôr bola publikovaná Ženevská deklarácia známa tiež pod názvom Ženevský sľub, ktorá je svojím obsahom modernou obdobou Hippokratovej tradície (Kutnohorská, 2007). Kladie sa ním predovšetkým pacientov záujem nad lekárov, zákaz diskriminovania chorých, chránenie dôvernosti informácií. Svetová lekárska

asociácia (anglicky World medical asociation - WMA), založená v roku 1945, prijala v tomto období ešte celú radu, pre lekársku etiku dôležitých spisov, ako vymenúva profesorka Haškovcová (2002) :

- Medzinárodný kódex lekárskej etiky z roku 1949 (anglicky International Code of Medical Ethics)
- Helsinská deklarácia z roku 1964 (anglicky Declaration of Helsinki)
- Lisabonská deklarácia o právach pacientov z roku 1981 (anglicky Declaration on the rights of the patient)
- Deklarácia o nezávislosti a profesionálnej slobode lekára z roku 1986 (anglicky Declaration on physician independence and professional freedom)
- Etické problémy týkajúce sa pacientov s duševnými chorobami pochádzajúca z roku 1995

V Spojených štátoch amerických však nastala iná situácia, kedy pomerne dlhú dobu nebola v krajine žiadna inštitúcia schopná presadzovať pravidlá prijaté v daných dokumentoch, čo sa zmenilo až rokom 1953 vznikom prvej federálnej agentúry. Nasledovne v roku 1971 Food and Drug administration - FDA (česky úrad pro kontrolu potravín a liečiv) zverejnila pravidlá pre skúšanie nových liečiv. V krajine boli taktiež prijaté nové zákony v súvislosti s ochranou pacientov napríklad v biomedicínskom a behaviorálnom výskume a v roku 1979 vyšiel dokument nazvaný *Belmont Report*, podčiarkujúci princípy úcty k pacientom a vlastnú prospešnosť výskumu (Droženová et al., 2010).

V Európe významným momentom bolo ustanovenie Rady Európy v roku 1949 so sídlom v Štrasburgu. Jej činnosťou vznikali pre zmluvné štáty záväzné dokumenty, ktoré sa svojím obsahom stali základom aj pri riešení etických otázok spojených s výkonom lekárskeho povolania, či v bioetickom posudzovaní, ako napríklad:

- Európsky dohovor o ochrane ľudských práv a slobôd z roku 1953
- Európska sociálna charta vytvorená v roku 1961 a upravená v roku 1999

- Európsky dohovor na zabránenie mučeniu a neľudskému či ponižujúcemu zaobchádzaniu alebo trestaniu z roku 1987
- Rámcový dohovor o ochrane národnostných menšín z roku 1998 (Rada Európy, ©2015)

2.1.3.2 Vývoj bioetiky ako samostatnej vednej disciplíny

Vzhľadom k neustále prehĺbujúcim sa poznatkom z medicíny a rozvoju biologických vied bolo potrebné rozpracovať podrobnejšie etické princípy zaoberajúce sa výskumom a jemu podobnej tématike. Preto pomaly dochádzalo k vyčleneniu bioetiky ako etického odboru, no základné či novoprijaté bioetické dokumenty vytvorené spoločnosťou ostali taktiež zdrojom pre lekársku etiku.

Rada Európy zriadila v roku 1985 skupinu pre bioetiku, *Comité Ad Hoc d'experts pour la bioéthique* - CAHBI, v roku 1992 pozmenenú na riadiaci výbor pre bioetiku, *Comité directeur pour la bioéthique* - CDBI, ktorého činnosťou vznikol v roku 1997 „Medzinárodný dohovor o ľudských právach a biomedicíne“ so svojimi dodatkovými protokolmi, ktoré postupne podstupujú schvaľovací proces členskými štátmi a ich začlenenie do národnej legislatívy:

- o zákaze klonovania človeka, ktorý vznikol v roku 1998
- o transplantáciách z roku 2003
- o biomedicínskom výskume z roku 2005
- o genetických testoch na zdravotné účely z roku 2008 (Droženová et al., 2010)

Tento dohovor je verejnosti známy ako „dohovor z Ovieda“, alebo skrátené „bioetický dohovor“ či „bioetická konvencia“. Prvé tri články prvej kapitoly dohovoru sa sústreďujú na základný účel dohovoru a teda na ochranu dôstojnosti a jedinečnosti ľudskej osoby, nradzujú záujem pacienta nad záujem spoločnosti či vedy. Štvrtý článok stanovuje, že prevádzaná zdravotná starostlivosť musí prebiehať podľa profesných povinností a štandardov. Ďalej sa

v dohovore uvádza, že každý terapeutický či výskumný postup by mal byť prevedený len pod súhlasom pacienta a tento súhlas musí byť slobodný a odvolateľný, a pacient má právo na ochranu osobných údajov. Piata kapitola sa napríklad venuje samostatne vedeckému výskumu a šiesta odberom orgánov a tkanív u transplantácií (Stolíňová, 2000) apod. V približne rovnakom období boli v roku 1993 v Ženeve vydané „Medzinárodné etické smernice pre biomedicínsky výskum s účasťou ľudí“, ktoré pripravila Rada pre medzinárodnú organizáciu lekárskeho výskumu (anglicky the Council for International Organizations of Medical Sciences - CIOMS) v spolupráci so Svetovou zdravotníckou organizáciou (anglicky World health organization - WHO). Taktiež Organizácia Spojených národov pre výchovu, vedu a kultúru - UNESCO v tom istom roku zriadilo (medzinárodná špecializovaná agentúra Organizácia spojených národov - OSN) medzinárodnú bioetickú komisiu *The International Bioethics Committee* - IBC s cieľom zabezpečiť rešpektovanie ľudskej dôstojnosti a slobody, ktorá sa zaslúžila o prijatie univerzálne platných dokumentov ako:

- Všeobecná deklarácia o ľudskom genóme a ľudských právach z roku 1993 (anglicky Universal Declaration on Human Genome and Human Rights)
- Všeobecná deklarácia o ľudských genetických údajoch z roku 2003 (Anglicky Universal Declaration on Human Genetic Data)
- Všeobecná deklarácia o bioetike a ľudských právach z roku 2005 (anglicky Universal Declaration on Bioethics and Human Rights) (UNESCO, s.a.)

V poradí doposiaľ posledné, 21. stretnutie bioetickej komisie *The International Bioethics Committee* sa uskutočnilo 8 - 12.9.2014 v Paríži. Zaoberalo sa napríklad inováciou Všeobecnej deklarácie o bioetike a ľudských právach, presnejšie o ochrane ľudských práv v súvislosti so stále sa rozširujúcimi poznatkami ohľadom ľudského genómu a ich zneužitím, či témou prúdkého rozvoja reprodukčnej medicíny a vývojovej biológie, ako napríklad liečby mitochondriálnych chorôb prostredníctvom tzv. pronukleárneho transferu (Akademie věd ČR, 2014).

2.1.3.3 Stručný vývoj lekárskej etiky a bioetiky v Českej republike

Čo sa týka situácie v Českej republike, tá súvisela bezprostredne s politickou situáciou na tomto území. V rozmedzí rokov 1939 - 1989 došlo v nemalej miere k spomaleniu demokratického rozvoja českej kultúry, čo sa prejavilo aj vo filozofickej, morálnej či právnej oblasti. Politická sféra nepriaznivo ovplyvňovala i pole etiky ako vedeckej disciplíny. V tomto období lekárskej etike a bioetike nebola venovaná prílišná pozornosť, a dokonca ani na vysokých či stredných odborných školách neprebiehala žiadna výuka. Prelomovým rokom sa stal rok 1989. Po páde komunistickej strany bol v Prahe podaný návrh na vznik *Centrální etické komise* - CEK. Návrh komisie bol prijatý ministrom zdravotníctva Martinom Bojarom, neskôr premenovanej na „*Etickou komisi Ministerstva zdravotnictví*". Popri nej vzniklo mnoho menších miestnych komisií vo väčších zdravotníckych inštitúciách a ústavoch. Centrálna etická komisia sa zaslúžila za prijatie Dohovoru z Ovieda, jeho zavedenia do národnej legislatívy dňa 1.10.2001 a postupné prijatie dodatkových protokolov. Dodatkový protokol o biomedicínskom výskume, na rozdiel napríklad od Slovenskej republiky, však Českou republikou prijatý doteraz nebol. Výskum prebiehajúci na ľuďoch je takto regulovaný len pokiaľ ide o klinický výskum týkajúci sa liečiv a zdravotníckych pomôcok. I keď v Českej republike chýba komplexný zákon o biomedicínskom výskume na človeku či zákon, zahrňujúci výskum v genetike a jej využitia v rôznych oblastiach, súčasná legislatíva týkajúca sa výskumu v krajine vyhovuje európskym platným normám (Droženová et al., 2010).

Výuka lekárskej etiky ako samostatného odboru bola v Česku zavedená až v roku 1992. Okrem lekárskeho fakúlt je dnes povinne vyučovaná na vyšších a okrajovo i na stredných zdravotníckych školách. Čo sa týka problematiky rozvoja bioetiky v Česku, prvé bioetické semináre sa objavili až po Nežnej revolúcii v roku 1989, no dnes je vyučovaná na predovšetkým stredných zdravotníckych školách a je súčasťou výuky pregraduálneho i postgraduálneho štúdia na teologických, filozofických no najmä lekárskeho vysokých školách (Droženová et al., 2010).

V súvislosti s nadobudnutím účinnosti zákona č.227/2006 Sb., o výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách a souvisejících činnostech a o změně některých souvisejících zákonů, bola v České republice v tom istom roku ustanovená *Bioetická komise pro výzkum, vývoj a inovace*, ktorá je ako poradným, tak odborným orgánom rady (Rada pro výzkum, vývoj a inovace, ©2013a). Komisia sleduje bioetické dianie v krajine, poddieľa sa na hodnotení bioetických aspektov v oblasti modernej biológie a medicíny pričom je v úzkom kontakte s obdobnými komisiami členských štátov EÚ (Rada pro výzkum, vývoj a inovace ČR, 2011). Okrem toho Rada pripravuje bioetické komisie pre oblasť napríklad teológie, zoológie (reprodukčná oblasť), biológie, biofyziky, biochemie, genetiky, práva, lekárstva (Rada pro výzkum, vývoj a inovace ČR, 2010).

2.1.4 Charakteristika bioetiky ako nového vedeckého odboru

Bioetika, ktorá je aj v 21.storočí pomerne mladou vedeckou disciplínou, vznikla ako eticko-filozofická reflexia na pomerne rýchlo sa rozvíjajúce vedecké poznatky nielen z oblasti biológie a medicíny, ale i vďaka vstupu samotnej techniky najmä do lekárskeho sveta (Kovaľová, 2013). Kontext, v ktorom sa rodí táto nová vedecká disciplína, súvisel nielen s prudkým vedecko-technickým pokrokom, ale aj s morálnym pluralizmom, multikulturalizmom, demokratizáciou, ekonomickými faktormi (Lešková Blahová, 2010) atď.

Pojem bioetika je zďaleka najširší a je nadradený pojmu lekárska etika a jeho synonymám (Haškovcová, 2002). Aj keď je odborné slovo eventuálne nové, disciplína, ktorú označuje má v čase hlboké korene a jej predhistória je natoľko spätá s históriou lekárskej etiky, až nemožno vymedziť ich presné hranice (Faggioni, 2012). Termín bioetika vôbec prvýkrát použil v sedemdesiatych rokoch minulého storočia Van Rensselaer Potter (1911 - 2001). Označilo sa tým nové pole etického pôsobenia, sústreďujúc sa na systematické štúdium ľudskej činnosti v oblasti biosu, teda života (Faggioni, 2012). Výraz vznikol zložením dvoch slov pochádzajúcich z gréčtiny, „biosu“

označujúceho život a „ethosu“, čo tak preklade označuje etiku, vedu o mravnosti (Haškovcová, 2002). Dodnes neexistuje jeho jednotná a ucelená definícia, a na otázku čo je predmetom bioetického skúmania odpovedajú viacerí zahraniční i domáci bioetici rôzne (Kovaľová, 2013). Častokrát sa uprednostňuje zúženie záberu bioetiky na zákroky na ľudskom živote, čo však prináša disciplíne viacmenej medicínsky ráz (Faggioni, 2012), a tak mnohí autori používajú výrazy bioetika a biomedicínska etika ako synonymá či bioetiku zamieňajú s lekárskou etikou, čo však nie je terminologicky presné a správne. V odbornej literatúre sa pre toto užšie chápanie zaviedol termín „biela bioetika“ (Kovaľová, 2013). V tejto perspektíve sa študijné pole bioetiky zameriava najmä na následky, ktoré so sebou prinášajú biomedicínske vedy ako také. Van Rensselaer Potter použil bioetiku vo svojom diele „Bioetika. Most do budúcnosti“ (anglicky Bioethics, Bridge to the future) zdôrazňujúc jej interdisciplinaritu medzi biologickými poznatkami a ľudskými morálnymi hodnotami. Jej cieľom je predovšetkým spojiť tieto dva entity tak aby bol život človeka aj budúcich generácií chránený a zachovaný. Bioetika sa tak nesústreďuje len na človeka, ale i na prostredie a prírodu, v ktorej žije. V tomto diele tak ešte nedošlo k rozlišovaniu etických otázok týkajúcich sa starostlivosti o zdravie a problémov vzťahu človeka k životnému prostrediu (Kovaľová, 2013). Práve druhú problematiku neskôr niektorí autori zahrnuli pod samostatné označenie „ekoetika“, „environmentálna etika“ (Ondok, 2005).

Súhrne by sa preto bioetika mohla označiť ako aplikovaná veda, ktorej predmetom etického skúmania je kontext reálnych aktivít živého sveta (Kovaľová, Fobel, Ďurčík, Ignjatovičová, 2009).

2.1.5 Základné bioetické východiská

V súčasnej dobe neustále narastajúci záujem verejnosti o bioetiku so sebou prináša stále nové problémy súvisiace s bioetickým posudzovaním určitej tematiky, keďže môžu byť zvolené rôzne filozofické východiská a vzhľadom k tomu výsledky daných riešení môžu značne variovať (Kořenek, 2004). V tzv.

západnej civilizácii, ktorá je charakteristická mnohorakosťou svojich názorov, dochádza k stretu odlišných náboženstiev a filozofických smerov. Obecne je preto všetko posudzované ako relatívne, s nemožnosťou nájsť celistvú a objektívnu pravdu (Bryant, La Velle, Searle, 2005). Mnohé z bioetických prístupov, najmä tie s teologickým základom, preto pomaly strácajú svoju platnosť, aktuálnosť a sú nahradzované novými.

2.1.5.1 Deontologické východiská bioetiky

Jedným z najužívanejších deontologických východísk bioetiky je pozitivizmus alebo tiež legalizmus. Jeho názov vznikol odvodením z gréckeho „legem pono“, čo v preklade znamená ustanovenie, polozenie zákona (Kořenek, 2004). Podľa tohto konceptu sa bioetické princípy zakladajú nezávisle od určitej filozofie ale výlučne empiricky, podobne ako je tomu v prevažnej väčšine prírodných vied. Takýto princíp sám o sebe nadobúda skôr normatívny ako filozofický rozmer, pretože sa opiera len o východiska, ktoré sú skúsenostne zdôvodnené. Jeden z pozitivistických prístupov nachádzame v tzv. analytickej etike, kde zdôvodnenie etických postupov a noriem vychádza z princípu univerzalizmu, ktorý považuje etickú normu za platnú ak, podľa stanovených a bližšie určených kritérií, získava všeobecnú platnosť. Ide o modifikáciu Kantovej formálnej etiky, kde sa norma stáva záväznou po prijatí všetkými ľuďmi. Pozitivistické východisko podľa niektorých názorov nedokáže pružne reagovať na stále nové doposiaľ nehodnotené bioetické dilemy najmä kvôli svojmu založeniu na empirii. Takto prichádzajúce nové otázky týkajúce sa predovšetkým genetiky a využitia biotechnológií môžu byť zhodnotené s odstupom času, čo ovplyvňuje aktuálnosť problému (Ondok, 2005).

Konzekvencionalizmus ako ďalšia deontologická etická teória, ktorá má svoj počiatok v 18-19 st. Hlásia, že správnosť, či naopak nesprávnosť konania človeka závisí výlučne na jeho následkoch (Bryant, La Velle, Searle, 2005). Jeho kritériom je maximum prospechu pre čo najväčší počet jedincov, spoločnosť (Ondok, 2005). Toto označenie spadá do konceptu utilitarizmu,

pretože ten sa snaží o kvantitatívne zhodnotenie následkov konkrétneho chovania, obecné ziskov a strát, ktoré so sebou každý ľudský počin nesie, pričom sa snaží práve o užitočnosť konania, teda jeho utilitárnosť (Kořenek, 2004). Jeho zakladateľ, britský filozof Jeremy Betham dokonca vyvinul systém, ktorým sa určí tzv. pomer pôžitku a utrpenia kedy výsledkom by malo byť vždy kladné číslo (Bryant, La Velle, Searle, 2005). Ako uvádza Kořenek (2004) vo svojej knihe, teória však môže mnohé bioetické prípady argumentovať len povrchno, dotýkajúc sa ich finančnej stránky z ekonomického pohľadu, nezohľadňujúc ich vzťah k spoločnosti ako celku. Užitočnosť je hlavné a často i jediné bioetické kritérium, na ktoré sa prihliada, je ale otázne z akého uhlu je hodnotená. Mnohí autori konzekvencializmu, ktorí toto učenie kritizovali sa začali uchýľovať k proporcionalizmu, ktorý sa na akt chovania človeka pozerá z dynamického hľadiska, rešpektujúc vývoj spoločnosti ako takej, čím sa pokúša reflektovať i neustály vedecký pokrok, hodnotový pluralizmus a individualitu osobnosti. Podľa neho neexistuje vskutku morálny či amorálny čin, ten totižto závisí vždy od konkrétnej udalosti. Táto teória spadá do teologického ponímania bioetiky, i keď bola neskôr práve cirkvou posudzovaná ako nesprávna (Kořenek, 2004).

2.1.5.2 Teologické východiská bioetiky

V priebehu storočí nebola teologická teória oddeľovaná od filozofickej etiky, skôr bola spoločnosťou vnímaná ako rozvinutie danej problematiky do hlbšej úrovne, pričom teologické tvrdenia pochádzali najmä zo štúdia svätého písma ako najvyššej autority. Východiská sa riadili tým, že rozum má byť neustále informovaný vierou. Teológia sa v bioetike usiluje o zhodnotenie integrity ľudskej osobnosti a jej telesnej a duševnej kompaktnosti a tým sa snaží odpovedať na morálne otázky (Ondok, 2005).

Jedným z naznámejších teologických konceptov je tomistická formulácia bioetického východiska. Tento koncept sa snaží analyzovať prítomnosť vyššieho, univerzálneho zákona, ktorý viaže celú ľudskú spoločnosť (Kořenek,

2004). Pôvod teórie „prirodzeného práva“ nazývaného tiež „ľudskou prirodzenosťou“ siaha až k stoikom do 5 st. p.n.l., jej autorstvo je však dodnes pripisované práve talianskemu filozofovi a dominikánskemu mníchovi Tomášovi Akvinskému, ktorý ju prvýkrát sformuloval v 13. storočí. Obečný morálny princíp požaduje aby človek konal v súlade so svojou prirodzenosťou. Prirodzené sklony človeka sú chápané ako výsledok snaženia, zamerania sa človeka na určitý cieľ, pričom samotné sklony boli ľudstvu pridelené od Boha. Teória nadobúda teologický rozmer, keďže tejto prirodzenosti je pridelovaná božská genéza. Ľudská prirodzenosť má podľa tohto konceptu spontánne sklony k určitým aktivitám a tie sú usmerňované a ovládané hodnotami samotného človeka. Jej podstatu treba týmto hľadať vo vedomí povinnosti spojenej s morálnymi základmi. Jej zmyslom je realizovanie vlastnej existencie, smerovanie k jej naplneniu a využitiu všetkých pozitívnych možností a schopností, ktorými ľudstvo oplýva a ktoré mu prinášajú najvyššie uspokojenie teda šťastie. Toto učenie bolo často kritizované pozitivistickými smermi, no v súčasnosti dochádza k jeho čiastočnej rehabilitácii niektorými autormi, ktorí zastávajú názor, kde je nevyhnutnosťou hľadať pramene etických a bioetických princípov práve v ľudskej prirodzenosti (Ondok, 2005).

No v Európe zatiaľ najrozšírenejšou je kresťansko - židovská tradícia. Táto tradícia sa ešte stále považuje za jeden z pilierov novodobej morálky (Kutnohorská, 2007). Učenie čerpá zo Starého, poprípade Nového zákona, v ktorých sú spísané Božie príkazy, i keď len veľmi vzdialene priamo dotýkajúce sa bioetiky. Sväte písmo nedáva odpovede na konkrétne otázky, ale návod a základné perspektívy k ich riešeniu (Ondok, 2005). Z kresťanských prúdov patria medzi najvýznamnejšie katolicizmus a protestantizmus. Osoba Krista predstavuje model dokonalého človeka, ktorý je jeho obrazom. Kto nasleduje Jeho učenie, stáva sa dokonalejším, morálnejším. Tradícia taktiež prijíma princíp prirodzenej etiky tomistického východiska (Ondok, 2005).

Teologické základy má i ontologický perzonalizmus. Základným cieľom tohto smeru je chrániť samotný ľudský život vo všetkých jeho aspektoch. Ten musí byť rešpektovaný od svojho samotného vzniku. Preto sa táto teória snaží o presnú definíciu pojmu života, pričom nerozlišuje medzi slovami ľudské bytie

a osoba. V ontologickom personalizme sú všetky formy bytia osobami, nevynímajúc zygoty, preembrya, embrya, novorodencov, deti starých či postihnutých ľudí. Každý život je posvätný a telo človeka nemôže byť v bioetickom koncepte redukované na jednotlivé bunky, tkanivá či sústavy. Akýkoľvek terapeutický či iný zásah preto musí akceptovať jeho celistvosť. Pri jednaní zameranom na časť celku sa má pozeráť prednostne na prospech celku ako takého (Kořenek, 2004). Teória sa snaží vyjadrovať k stále aktuálnejším témam najmä výskumu a izolácie kmeňových buniek, potratom, eutanázii, genetickým manipuláciám s ľudským genómom, klonovaniu atď.

2.1.5.3 Ostatné bioetické východiská

Okrem iných je známa i diskurzívna bioetika. Jej zakladateľmi sú nemeckí autori Habermas a Apel, podľa ktorých morálna voľba nie je výsledkom poznania etických noriem ale vyústením diskurzu kde sa riešenie, vďaka argumentácii spoločné hľadá. Ide o konsenzuálne stanovisko všetkých zúčastnených. Východisko teda nehovorí čo je morálne prijateľné a správne, ale ako k tomu dôjsť. Je to v súčasnosti najpoužívanější koncept a v súvislosti s ním mnohí autori začínajú pomýšľať nad bioetikou v jej globálnej podobe, kedy by došlo k legislatívnemu ukotveniu jej noriem do národných legislatív a bioetické problémy by sa riešili na celosvetovej úrovni (Kováľová, 2013).

Východiskom čerpajúcim najmä z emocionálnej zložky ľudského chovania je intuicionizmus. Podľa intuicionizmu sa racionálnou cestou nedá určiť čo skutočne je eticky správne, je to možné intuitívne a to bezprostrednou reflexiou etického charakteru konania, ale ako sa vyjadril Ondok (2005) to so sebou nesie aspekt subjektivity a nastoľuje obecný problém ako dôjsť ku spoločným záväzným etickým normám.

2.1.6 Najznámejšie bioetické centrá vo svete

Jedným z najznámejších centier, ktoré vzniklo v USA je *Hastings Centre* založené v roku 1969 psychiatrom Gaylinom a filozofom Callahanom, ktorí i keď v tých rokoch so samotným pojmom bioetika nepracovali, ich cieľom bol výčet etických pravidiel týkajúcich sa biomedicínskeho výskumu a experimentov. Edukačná činnosť newyorského centra spočíva najmä vo vytváraní vzdelávacích programov spracúvajúcich napríklad tematiku AIDS, umelého oplodnenia, ukončenia terapie umelo predlžujúcej život, prenatálnej diagnostiky, prerozdeľovania zdrojov v zdravotníctve, novorodeneckého skríningu atď. Každoročne vydáva tzv. *Hastings Center report* ako výber esejí, odborných článkov, prípadových štúdií, recenzií kníh (Kovaľová, Fobel, Ďurčík, Ignjatovičová, 2009). Okrem toho je v krajine známy napríklad inštitút bioetiky - *The Joseph and Rose Kennedy institute for the study of human reproduction and bioethics*. Toto stredisko vzniklo v roku 1971 popri medicínskej fakulte Georgetownskej univerzity za podpory Kennedyovej rodiny. Je to prvé centrum oficiálne nazvané ako inštitút bioetiky a popri ňom vzniklo i centrum bioetiky *Program in Bioethics*. Spolu patria k popredným bioetickým základniám, zameriavajúcim sa na výskum a vzdelanie v bioetickej oblasti. Významnými dielami centier sú *Encyclopedia of bioethics*, vypracovaná W.T. Reichom v roku 1978, revidovaná v 1995 ako aj bibliografické publikácie *New titles in bioethics* a *Scope note series*. Poskytujú i informačný servis vďaka online systému Bioethicsline (Kovaľová, Fobel, Ďurčík, Ignjatovičová, 2009). V USA postupne vznikalo nepreberné množstvo bioetických centier vznikajúcich popri nemocniciach, výskumných laboratóriách ale predovšetkým univerzitné centrá, ako napríklad *Advanced study in bioethics* pri Clevelandskej štátnej univerzite, *Brown university center for biomedical ethics* Brownskej univerzity, *Center for the study of bioethics* vo Wisconsin (National Institutes of Health, 2011) atď.

V Austrálii je známe centrum s názvom *Center for human bioethics*, ktoré v roku 1960 založil vôbec prvé centrum venované bioetike profesor Peter Singer a to sa postupne stalo jedným z popredných bioetických centier v celosvetovom meradle. Centrum vzniklo pri Univerzite Monash ako časť fakulty umení a je známe svojím nestranným a nenáboženským prístupom

k bioetickým problémom. V roku 1987 Helga Kuhse a Peter Singer založili uznávaný časopis *Bioethics* vydávaný štvrťročne a neziskovú svetovú organizáciu *International Association of Bioethics* - IAB. IAB združuje členov rôznych akademických disciplín a usporadúva každé dva až tri roky medzinárodné konferencie (Monash University, ©2014).

Čo sa týka Európy jednou z krajín s najlepšie rozvinutou sieťou bioetickým centier je popri USA, Austrálii, Japonsku a Číne práve Veľká Británia. Je známa svojím *Linacre Center for health care ethics*, ktoré bolo prednedávnom premenované na *The Anscombe Bioethics Centre*. Ide o rímskokatolícky inštitút úzko spolupracujúci s Oxfordskou univerzitou, založený v roku 1977. Centrum iniciuje rôzne vzdelávacie programy zahrňujúce programy pre širokú verejnosť až po postgraduálne štúdium, jeho súčasťou je i vlastná knižnica a predajňa centrom publikovaných kníh, dotýkajúcich sa tematiky napríklad ľudskej reprodukcie a genetiky, darcovského počatia, sterilizácie mentálne postihnutých osôb, chimérizmu, umelého udržiavania pri živote, eutanázie, ošetrovateľskej praxe, výskumu (The Anscombe Bioethics Centre, s.a) ai. Ďalšími známymi bioetickými centrami sú napríklad *The Centre for Ethics, Law & Society* - CELS univerzity v Kardiffe, ktoré sa snaží o chápanie bioetiky v širšom kontexte aj ako výsledok zdravotnej politiky štátu (Cardiff University, s.a), či Centre for Applied Bioethics, ktoré vzniklo popri univerzite v Nottinghamu (Centre for Applied Bioethics, ©2010) a mnoho ďalších.

V Španielsku vznikli *Instituto Borja de Bioética*, ktoré je jedným z popredných európskych centier bioetiky, s jeho významnými autormi ako F. Abel, D. Gracia, L. Delgado a inštitút *Sociedad Andaluza de investigacion bioética*, založený v roku 1993, pravidelne vydávajúci časopis *Bioética y Ciencias de la Salud* (Kovaľová, Fobel, Ďurčik, Ignjatovičová, 2009).

Vo Francúzsku funguje inštitút *L'Institut National de la Santé et de la Recherche Medical* - INSERM, založený v roku 1964. V spojení s týmto inštitútom vzniklo v roku 2008 10 tematických inštitútov, napríklad inštitút genetiky, genomiky a bioinformatiky, inštitút verejného zdravia, zdravotných

technológií (Inserm, s.a.), a *Centre de Documentation et d'Information en Ethique* - CDEI so svojím sídlom v Paríži (Kovaľová, Fobel, Ďurčik, Ignjatovičová, 2009).

Dôležité miesto v oblasti vzdelávania má i talianske *Centro di bioetica* ako súčasť rímskej Katolíckej univerzity svätého srdca - UCSR (Kovaľová, Fobel, Ďurčik, Ignjatovičová, 2009).

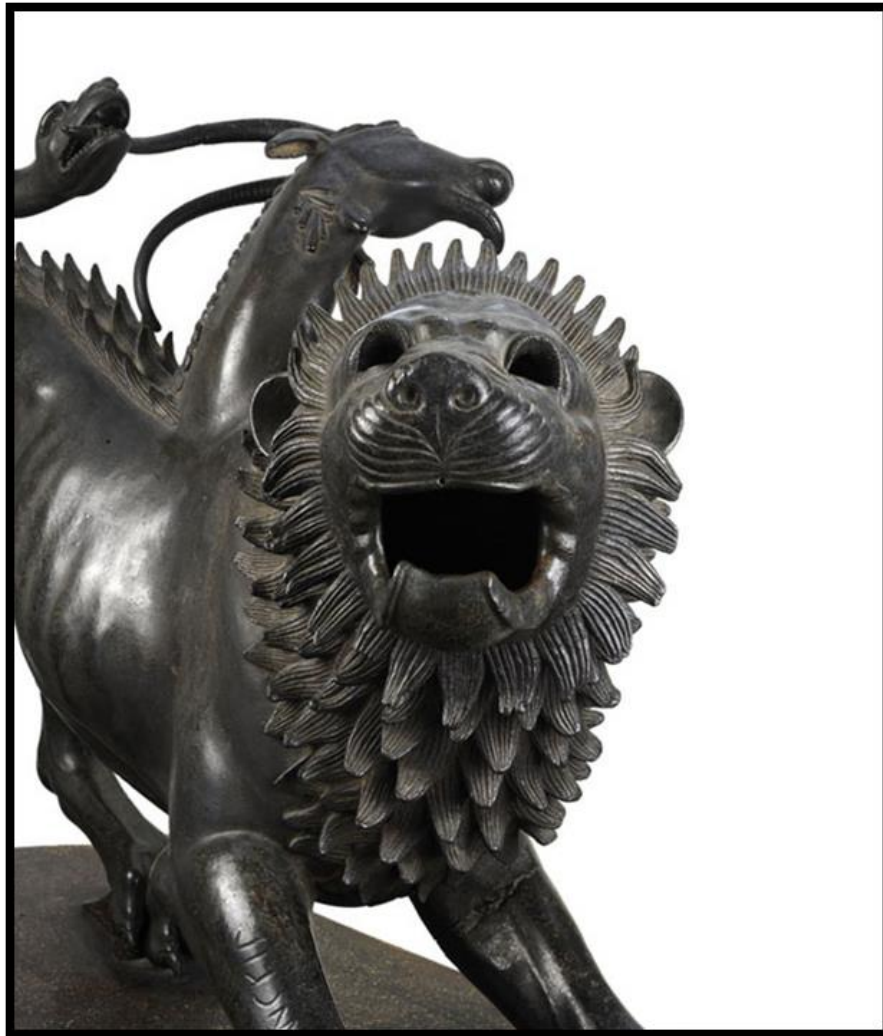
Čo sa týka Českej republiky, v krajine bola zriadená *Rada pre výskum, vývoj a inovace* ako odborný a poradný orgán štátu. Jej pôsobnosť bola stanovená v roku 2002 zákonom č.130/2002 Sb., o *podpoře výzkumu, experimentálního vývoje a inovací*. Jedným z vlastných poradných orgánov Rady je bioetická komisia (Rada pro výzkum, vývoj a inovace, ©2013b).

Informácie bioetického charakteru európskym krajinám súhrne poskytuje združenie *Euroethics Health Network*, do ktorého patria Belgicko, Bulharsko, Česko, Estónsko, Francúzsko, Holandsko, Litva, Nemecko, Poľsko, Slovensko, Slovinsko, Španielsko, Švédsko a Veľká Británia. Jeho cieľom je poskytovať rýchly a systematický prístup k problematike súčasnej biomedicíny v Európe, no i vo svete (Kovaľová, Fobel, Ďurčik, Ignjatovičová, 2009).

2.2 Chimérizmus a mikrochimérizmus

2.2.1 Definícia pojmu chimérizmus

V gréckej mytológii chiméra predstavovala tvora zloženého z rôznych častí zvierat. S hlavou leva, telom kozy uctievaná najmä medzi ľuďmi zo Sicílie a Lýcie (Mastrocinque, 2007).



Obrázok č. 1: Chimaera of Arezzo, z obdobia 400 p.n.l., ako predmet etruskej mytológie (Guerrini, 2009)

Neskôr sa tak chiméra stala všeobecným symbolom preludu, hádanky, čohosi neskutočného. Tento pojem sa však neskôr v odbornej verejnosti začal používať ako označenie rekombinantnej (chimérickej) DNA vytvorenej z fragmentov DNA z viacerých organizmov, či pomenovanie jedinca zloženého zo súboru rôznych genotypov (Brown, 2007).

Je však potrebné presné vymedzenie pojmov chimérizmus, mozaicizmus a transgénny organizmus, keďže tieto pojmy spolu úzko súvisia a sú často mylne užívané. Kým pri mozaicizme pochádzajú chromozómovo odlišné bunky vždy z jednej zygoty, chimérický organizmus môže obsahovať bunky, tkanivá či orgány s rôznym genotypom, pričom vzniká z dvoch zygot daného organizmu, či zo zygot druhovo príbuzných, či odlišných jedincov. Súčasne odlišujeme zygotický chimérizmus, kedy chiméra vzniká splynutím diploidného vajíčka dvoma spermiami majúcimi odlišný gonozómom, či oplodnením haploidného vajíčka prvou spermiou a pólóvého telieska vajíčka, spermiou druhou, poprípade splynutím dvoch súčasne vytvorených zygot do jednej moruly. U dvojvaječných dvojčiat je známy postzygotický chimérizmus, kedy tieto dvojčatá vytvárajú chiméry vďaka placentárnym anastozómam počas vnútromaternicového vývoja (Malan et al., 2006). Odlíšiť pojmy transgénny organizmus a chiméra je obtiažne. Transgénny organizmus vznikol metódou in vitro horizontálneho prenosu izolovaných génov čiže transgenózou, inak povedané technológiou rekombinantnej DNA, ktorá sa uplatňuje v genetickom inžinierstve (Drobník, 2008). Takto vzniknutý geneticky modifikovaný organizmus môže mať, v závislosti od metódy jeho tvorby, začlenenú cudziu DNA (Gálová et al., 2013) vo všetkých svojích bunkách, to znamená, že celý jeho genóm obsahuje tzv. chimérickú DNA alebo môže ísť o umelo vytvorenú chiméru v pravom slova zmysle, kedy tento gén neobsahuje celý jedinec, ale naopak, jedinec pozostávajúci zo súboru ako upravených tak neupravených buniek (Brown, 2007). Transgénny organizmus takto môže, ale nemusí byť chimérickým a naopak.

2.2.2 Prirodzene sa vyskytujúci chimérizmus

2.2.2.1 Chimérizmus v rastlinách

S chimérizmom sa pravidelne stretávame u niektorých druhov rastlín. Podľa spôsobu usporiadania jednotlivých buniek v apikálnom meristéme výhonku, ho delíme na periklinálny, meriklinálny a sektoriálny. Meriklinálne chiméry obsahujú genotypovo odlišné bunky len v menšej časti jednej z troch tkanivových vrstiev, kým sektorové obsahujú úseky či bloky odlišných buniek, ktoré môžu prechádzať viacerými vrstvami a periklinálne obsahujú súvislé genotypovo rozdielne vrstvy prechádzajúce celým apikálnym meristémom. Vzhľadom k tomu, že jednotlivé meristematické vrstvy majú rozdielne funkcie pri tvorbe rastliny, sektoriálne a meriklinálne chiméry majú častokrát fenotypovo rozdielne časti listov, kvetov či plodov (Stenkamp et al., 2008). Vznik rastlinných chimér má veľaokrát ekologický dôvod, kedy sa zvyšuje šanca prežitia celej rastliny pochádzajúcej z geneticky nepríbuzných jedincov. Napríklad telá škrtičov rodu *Fikus* (česky Smokvoň) z čeľade morušovníkovitých (latinsky Moraceae) vznikajú práve zrastom a vzájomným poprepletaním pletív z viacerých rastlín vyrastajúcich zo zhlukov semien a práve vďaka tomu je rastlina schopná efektnejšie vytvoriť na hostiteľovi svoj skelet s vlastnými reprodukčnými orgánmi (Flegr, 2009).

2.2.2.2 Chimérizmus v živočíšnej ríši

Fenomén tzv. freemartírov teda neplodných jedinecovo vo zvieracej ríši, najmä medzi dobytkom bol dlho pre vedcov veľkou neznámou. I keď bolo známe, že v niektorých pároch dobytko sa u zmiešaných dvojčiat rodili samice, ktoré mali ako vaječníky tak semenníky či naopak, no až neskôr sa zistilo, že ide o následok placentárnych anastomóz vytvorených v prenatalnom štádiu medzi dvojčatami rozdielneho pohlavia. Vďaka tejto výmene buniek sa tak rodili chimérickí jedinci. Výmena bola možná nielen medzi krvotvornými bunkami dvojčiat, ale i medzi primitívnymi pohlavnými bunkami. U kráv je tento jav relatívne častý, no doposiaľ nebol nájdený podobný prípad v ľudskej populácii

(Abuelo, 2009). Dlho nevyriešenou genetickou záhadou boli malé opice z Južnej Ameriky patriace do čelade kosmáčovitých (latinsky Callitrichidae) z rodu Kozmáč (česky Kosman). Matky Kosmanov rodia takmer výlučne dve dvojvaječné mláďatá. Zaujímavosťou však bolo keď v roku 1962 vedci z Darmouth medical school zistili, že skoro všetky z nich obsahujú hemopoetické kmeňové bunky pochádzajúce z druhého dvojčaťa. Príčinou chimérizmu týchto opíc bol práve ich zvláštny vývoj. Počas vnútromaternicového vývoja oboch placent dochádza k rýchlemu rastu a k vzájomnej fúzii ich choriónov s vytvorením anastomóz, čo umožňuje výmenu buniek. Ďalším prekvapujúcim objavom bola skutočnosť, že viac ako polovica spermií pochádzajúca od samcov Kosmanov a 2 z 21 samičích vajíčok bola chimérická. U samcov spermia takto pochádzala od jedného jedinca avšak jej DNA prislúchala jeho dvojvaječnému bratovi. Z výskumu vyplynulo, že otcovia sa o chimérické jedince zaujímajú viac ako o tie nechimérické aj keď u matiek je tomu naopak (Zimmer, 2007). Podľa doktorky Coriny Ross z University of Texas v Austine táto prítomnosť chimérizmu môže ovplyvniť rozdelenie rodičovskej starostlivosti. Ide o unikátnu adaptáciu vývoja kooperatívnej starostlivosti o mláďatá v rade primátov (Ross et al., 2007).

2.2.2.3 Chimérizmus v ľudskej populácii

V roku 1998 bol na Beth Israel Deaconess medical center v Bostone zaznamenaný prípad 52 ročnej ženy, v médiách pomenovanej ako Jane, kedy kvôli potrebnej transplantácii obličky boli jej najbližšej rodine vykonané testy DNA. Testy však ukázali, že dvaja z jej troch synov nie sú jej biologickými synami. Po dvojročnom pátraní doktorka Margot Kruskall a jej tím objavili vďaka štúdiu haplotypov HLA buniek členov rodiny a buniek odobratých z rôznych častí jej tela (štítnej žľazy, ústnej sliznice a vlasov), že Jane je ľudskou chimérou, ktorej súčasťou bolo jej dvojvaječné dvojča, sestra, išlo teda o tetragametický chimérizmus typu XX/XX. Podobný prípad bol ešte v roku 1979 publikovaný v medzidisciplinárnom vedeckom časopise Nature, kde genetické testy ukázali, že žena nie je matkou ani jedného zo svojich štyroch

detí. Tento prípad však nebol vyriešený ani posúdený ako chimérizmus ženy. Takéto príklady sa však po celom svete mohli objaviť často náhodne pretože chimérizmus môže, ale nemusí mať, výrazné vonkajšie znaky (Wolinsky, 2007). Išlo napríklad o rozdielnosť sfarbenia očnej dúhovky, výskyt ženských a mužských pohlavných orgánov súbežne, ba dokonca nález ľudského hermafroditizmu, či prítomnosť tzv. Blaschkových línií.

Blaschkove línie (anglicky blaschko's lines) boli prvýkrát popísané dermatológom Alfredom Blaschkom v roku 1901 pri pozorovaní viac ako 140 pacientov s lineárnymi kožnými léziami prezentujúcimi sa podobným vzorom. Sú neraz spájané s rôznymi dermatózami, pretože niektoré kongenitálne ale i získané dermatologické, či iné genetické choroby často sledujú ich priebeh. Majú najčastejšie tvar písmena V v hornej oblasti chrbáta, tvar S v oblasti brucha a U v hrudnej oblasti. V skutočnosti je ich príčinou odlišný vývojový model rastu epidermálnych buniek embrya a v dôsledku bunečne odlišných sád v epiderme sa môžu prejaviť rozdielnou pigmentáciou. Pokožka, no aj jej prídavné časti ako melanocyty, cievny systém, podkožný tuk môžu byť samostatne alebo v kombinácii zapojené do rôznych morfológických prejavov týchto línií (Tagra et al., 2005). Sú často dôsledkom ľudského mozaicizmu ale v poslednej dobe sú dokazované i nové prípady kedy išlo o spomínaný ľudský chimérizmus. Prezentujú sa tak v oboch prípadoch a nie sú výlučne späté s mozaicizmom či chimérizmom, vďaka čomu dodnes nie je možné odhadnúť ich incidenciu v ľudskej populácii. Tieto línie sú väčšinou oku neviditeľné a zvyčajne ich možno zbrať len pod UV fialovým svetlom. Avšak ľudské chiméry ich môžu prezentovať omnoho výraznejšie, teda viditeľnejšie. Je popísaný prípad 6 ročného chlapca, u ktorého sa tieto línie prezentovali nepravidelnou zreteľnou pigmentáciou najviac viditeľnou v stredovej línii ľavej strany brušnej oblasti, no i v iných oblastiach napríklad lýtok či bočnej časti trupu. Po cytogenetickom vyšetrení vedci napokon zistili, že išlo o prípad tetragametického chimérizmu (Lipsker et al., 2008), ktorý sa najviac prejavoval práve v spomínanej brušnej oblasti ako zobrazuje obrázok č. 2.



Obrázok č. 2: Blaschkove línie v brušnej oblasti u 6 ročného chlapca (Lipsker et al., 2008)

2.2.3 Umelo vytvorený chimérizmus

2.2.3.1 Metóda tvorby chimér cez embryonálne kmeňové bunky

Táto *in vitro* metóda umožňuje začlenenie danej sekvencie DNA homologickou rekombináciou do kultúry embryonálnych kmeňových buniek - ESC, vyizolovaných z vnútornej bunkovej masy embrya v štádiu blastocysty), alebo do menšej miery do kultúry embryonálnych zárodočných buniek - EGC, získaných z kultúry primordiálnych germinálnych buniek - PGC a ich následné

spojenie s embryom (Gálová et al., 2013). Ide teda o spojenie kmeňových buniek určitého druhu s embryom. Najčastejšie genetická úprava kmeňových buniek prebieha prenosom cudzej genetickej informácie do embryonálnych kmeňových buniek a to:

- elektroporáciou: Ide o vstup DNA do buniek vďaka otvoreniu ich pórov pôsobením elektrického prúdu
- MATra-magneticky asistovanou transfekciou: Táto transfekcia spočíva v naviazaní DNA na magnetické častice nanorozmerov a následnej trypsinizácii tkaniva, kedy dochádza k desintegrácii na jednotlivé bunky a začleneniu danej DNA.
- lipofekciou: DNA je v tomto prípade naviazaná na lipidové katióny – lipozómy, ktoré prechádzajú cez fosfolipidovú membránu ESC buniek, metóda sa môže kombinovať s magneticky asistovanou transfekciou (Gálová et al., 2013)
- poprípade vápenato - fosfátovou precipitáciou: Takto upravené embryonálne bunky sa kultivujú a dochádza k ich selekcii na základe selekčných markerov, ktoré boli do nich počas procesu zabudované. Následne sú použité na agregáciu či prenos s embryami rôzneho vývojového štádia so vznikom chimérického jedinca (Tóth et al., 2007).

Okrem prenosu génov do už vopred vzniknutých pôvodných embryonálnych buniek - EC existujú aj metódy kde sú tieto embryonálne bunky (EC bunky) najprv vytvorené a v ktorých je už genetická informácia transportovaná. Vznikajú tak tzv. transgénne embryá používané na účely vytvárania transgénnych organizmov, ale i chimér. Postup tvorby chimérických jedincov je totožný ako v prvom prípade kedy odobraté EC bunky transgénneho embrya podstupujú inkorporáciu do ďalšieho embrya (Gálová et al., 2013). Tvorba transgénneho embrya môže prebiehať:

- mikroinjekciou DNA do prvojadra oplodneného vajíčka: Zvolený gén alebo kombinácia génov, najčastejšie vo forme cDNA sú

mikroinjikované v koncentrácii približne $1-2\text{ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$. Zvolená metóda sa využíva zväčša u myší a králikov, pretože oproti prvojadram potkanov a iných vyšších druhov zvierat sú jednoduchšie vizualizovateľné.

- mikroinjekciou DNA do obidvoch prvojadier oplodneného vajíčka: Postup bol v roku 2003 úspešne aplikovaný profesorom Chrenekom a jeho tímom u vyšších druhov zvierat a jeho úspešnosť sa oproti predchádzajúcemu postupuobecne zvýšila dokonca u myších embryí až o 30%.
- prenosom génov do pohlavných buniek: Od roku 1989 je dostupný tzv.spermiami dostupný prenos génov - SMGT, ktorý sa zakladá na schopnosti samotných spermíí viazať a poňať i molekuly cudzej DNA a pri oplodnení ich tým preniesť do oocyту, prenos teda prebieha bez manipulácie s embryom. Tento postup by sa v budúcnosti mohol uplatniť na tvorbu multigénových transgénnych organizmov napríklad prasiat a to s využitím nielen pre výskum, poľnohospodárstvo a farmaceutický priemysel ale i na xenotransplantácie u ľudí. Existuje viacero obdôb tejto metódy, v kombinácii s REMI (restrikčným enzýmom sprostredkovaný prenos), s elektroporáciou, a pomocou mAb (protilátkou sprostredkovaný prenos do spermie).
- prenosom génov do gonád: Či už pri prenose génov do semenníkov (anglicky testis mediated gene transmission - TMGT) alebo do vaječníkov (anglicky ovary mediated gene transmission - OMGT) je exogénna DNA naviazaná na lipozómový komplex, injikovaná do pohlavných orgánov. Ďalším párením s netransgénny jedincom alebo ich prenosom u prvej metódy na 7 deň po injekcii a u druhej na 7. - 15. deň (Gálová et al., 2013).
- prenosom génom do somatických buniek: V roku 2001 bola Matsumotom a jeho kolegami uvedená nová nevirová na plazmide založená in vivo metóda pre arteriálny prenos génu pomocou elektroporácie. Pre optimalizáciu prenosu a zistenie jeho účinnosti autori prvýkrát použili králičiu karotídu a gén pre luciferázu

svätojánskej mušky, pričom postup zaznamenal najvyššiu účinnosť pri napätí 20 voltov (Matsumoto et al., 2001).

- retrovírusmi (adenovírusmi) sprostredkovaným prenosom génov: Vírusy sú často používané ako nosič či vektor genetického materiálu pri prenose do bunky, pretože sa využíva ich schopnosť infikovať bunku (Gálová et al., 2013). Avšak vírusové vektory, adenovírusy nevynímajúc majú potenciál vyvolať imunologické či cytotoxické komplikácie (Matsumoto et al., 2001). Výsledkom je F1 generácia, ktorá ďalej podstupuje testy na expresiu transgénu, pričom v závislosti od použitej techniky môže byť F1 generácia chimérická, poprípade ak sa vyvinú tzv. zárodočné chiméry kde sa transgén začlenil práve do zárodočných buniek, môžu sa daní jedinci navzájom krížiť nasledujúcich 12 - 20 generácií až vznikne homozygotné potomstvo s plne začlenenou transgénou informáciou (Gálová et al., 2013).

2.2.3.2 Využitie umelo vytvoreného chimérizmu v rôznych oblastiach

Oblasti v ktorých môže byť umelo vytvorený chimérizmus použitý je nepreberné množstvo, no z nich najdôležitejšie sú predovšetkým farmaceutický priemysel, výskum, humánna i nehumánna medicína vrátane klinickej praxe.

- vytváranie chimérických jedincov:

V roku 2003 čínski vedci Ying Chen a Hui Zhen Sheng spolu s tímom zo Shanghai Second Medical University úspešne vytvorili ľudskú - zvieracu chiméru keď preniesli ľudskú DNA do králičích embryí. Tie sa na základe povolenia, počas niekoľkých dní vyvíjali v *in vitro* prostredí a boli následne týmom zničené (Chen et al., 2003). Avšak vôbec prvou umelo vytvorenou zvieracou chimérou bola v roku 1984 tzv. geep, zviera, stvorené z ovce a kozy (Fehilly et al., 1984). Enormný potenciál chimérických jedincov spočíva v práve unikátnej integrácii, oboch, ľudských a zvieracích buniek. Preto chimérické zvieratá umožňujú predovšetkým štúdium ľudských chôrob ako v prípade chimérickej myši

obsahujúcej ľudskej erytrocytarnej bunky či bunky pečene (česky jater), kedy vedci študovali nielen replikáciu ale i celý životný cyklus prvoka *Plasmodium Falciparum* zodpovedného za prenos a šírenie malárie (Siu, Ploss, 2015), či napríklad v štúdiu zaoberajúcej sa patofyziológiou hepatitídy typu B a C a jej liečbou v myši s chimérickou pečeňou kde títo jedinci odpovedali na podanú antivirotickú liečbu a tým umožnili i testovanie nových účinných látok v tele chimérického jedinca (Bissing et al., 2010). Okrem toho výsledkom tvorby chimér môže byť v budúcnosti i tvorba ľudských orgánov vo zvieracom tele, čo v budúcnosti môže výrazne znížiť riziko odmietnutia transplantovaného zvieracieho orgánu. Vedcom sa do dnešnej doby napríklad podarilo vytvoriť ovцу s hepatocytmi, ktoré javili všetky funkčné vlastnosti normálnych ľudských hepatocytov a vytvárali pečenné funkčné jednotky charakteristické pre človeka (Almeida-Porada et al., 2004). Problematika transplantácie orgánov zo zvierat sme sa ale v našej práci venovali v samostatnej kapitole.

- **chimérické protilátky:**

Chimérické protilátky sú výsledkom humanizácie monoklonálnych protilátok u hlodavcov z dôvodu zabránenia tvorby antimyších protilátok (anglicky human antimouse antibodies - HAMA) podieľajúcich sa na znemožnení naviazania monoklonálnej protilátky na antigén, poprípade vyvolania nežiadúcej imunitnej reakcie. Prvou generáciou týchto inžinierskych zásahov do molekúl boli práve chimérické protilátky, ktorým je väzebné Fab miesto z myšacej molekuly ponechané, ale ostatné časti protilátky sú nahradené úsekmi kódujúcimi ľudský genóm. Pretože názvoslovie protilátok vzniká genericky, chimérické sú charakteristické práve príponou ximab napríklad basiliximab, s cieľovým antigénom CD25, infliximab s antigénom pre TNF- α a rituximab pre CD20. Liečivá obsahujúce spomínané účinné látky majú v Českej republike platnú registráciu (Sobotková, Bartůňková, 2008).

- **klonovanie:**

Okrem dvoch pôvodných techník klonovania (delenie embryí a prenos jadier do enuklovaného oocyту) existuje tretia metóda klonovania tzv. treťou cestou, založená na tvorbe chimér. Týmto postupom využívajúcim EC bunky, môže vznikať prakticky neobmedzený počet klonov. Ako uvádza Petr (2003) vo

svojej knihe maďarsko-kanadský tím na čele s doktorkou Janet Rossant už v roku 1993 použil tzv. nepriebojné embryo, ktoré malo zdvojenú dedičnú informáciu, išlo teda o tetraploidné embryo, ktoré by sa za normálnych podmienok nevyvinulo v životaschopný zárodok. Postup využil 'sendvičovú metódu', ktorá spája tieto tetraploidné embryá s EC bunkami pokročilejšieho vývojového štádia, na čo sa vytvára tzv. spoločenstvo neschopných, kde EC bunky plnia úlohu vytvárania tkanív a orgánov plodu (tvorby samotného plodu) a bunky tetraploidného embrya vytvárajú plodové obaly a placentu. Týmto spôsobom vzniká jedinec, klon, ktorého bunky by mali pochádzať len z EC buniek. Obdobne japonský tím v spolupráci s Keith Campbell pracoval na vytvorení klonu hovädzieho dobytku z tetraploidných buniek, avšak výsledkom boli klony, obsahujúce aj tieto bunky. Nešlo teda o dokonalý klon, ale chiméru. Príčinou tohto neúspechu bolo, podľa autorov, použitie nekvalitných EC buniek, ktoré nedokázali plne prevziať úlohu tvorby zárodka nad tetraploidnými embryami. Keďže v súčasnosti sa podarilo úspešne izolovať a kultivovať aj ľudské EC bunky, táto cesta klonovania, ako alternatíva klonovania pomocou somatických buniek cez prenos do jadra by v budúcnosti mohla byť použitá aj u ľudí.

- **chimérizmus vo výskume:**

Čo sa týka výskumu využívajúceho pri svojom postupe chimérických zvieracích jedincov, v súčasnosti prebieha obrovské množstvo vedeckých prác zameraných na túto oblasť. Preto sme v našej práci uviedli len niekoľko z nich. Doktorka Diana L. Clarke a spolupracovníci skúmali dospelé neuronálne kmeňové bunky - NSC, z ROSA26 myši (nesúcimi bakteriálny lacZ+ gen pre expresiu β -galaktosidázy a neomycin-fosfotransferázový gén), ktoré použili pri vývoji chimérických kuracích a myších embryí a to pri *in vitro* kultivácii s embryoidnými telieskami ESC buniek. Objavili, že pri kultivácii NSC bunky obsahovali napríklad desmín (proteín špecifický pre myocyty svalového tkaniva obratlovcov) schopný vytvárať syncytia podobné priečne pruhovanému svalstvu s vykazovanou imunoreaktivitou na ťažký reťazec myozínu, cytokeratín 20 typický pre intestinálny epitel. NCS bunky kultivované v rovnakých podmienkach, ale bez prítomnosti ESC buniek však syncytia nevytvárali a nemali teda potenciál osvojiť si profil svalových buniek apod. Pri analýze

diferenciačného potenciálu *in vivo* boli NSC bunky injikované do blastocyt a následne testovaný profil ich potomstva. 24 z 109 embryí bolo chimérických. Okrem nervového systému s vysokým stupňom chimérizmu, sa bunky odvodené od NSC nachádzali, morfológicky nerozoznateľne, napríklad v hepatocytoch a enterocytoch mezodermálneho pôvodu, chorde dorsalis mezodermového pôvodu, či s veľkým zastúpením práve v myokarde embryí apod. Získané dáta demonštrovali, že dospelé NSC bunky môžu interagovať s vyvíjajúcim sa myším a kuracím embryom a spolupodieľať sa na tvorbe tkanív a orgánov všetkých troch zárodočných vrstiev, čo sa môže využiť v liečbe mnohých nemocí dospelých ľudí ale i embryí predovšetkým u neurodegeneratívnych porúch (Clarke et al., 2000). Ďalším významným smerom vo výskume, využívajúcim aj chimérických zvieracím jedincov je tzv. knockout metóda amerického biológa, nositeľa Nobelovej ceny Maria Capecchi (Petr, 2003). Je založená na inzercii cudzorodej DNA do génu, čo preruší, teda knockoutuje jeho funkciu. Prvý krok predstavuje konštrukcia vektora schopného podstúpiť homologickú rekombináciu s jednou z chromozomálnych kópií daného génu. Do klonovanej kópie vektora je navyše začlenený gén (*neo*^r) čo ho rozdelí na dve polovice a tým vyradí z funkcie navyše umožní použitie antibiotika neomycínu pri eliminácii buniek, do ktorých daný vektor nebol inkorporovaný. Časti génu zostávajúce na oboch koncoch vektora však naďalej poskytujú homológne miesta pre homologickú rekombináciu (Snustad, Simmons, 2010). Na samotnom konci vektora je okrem toho včlenený gén pre tymidínkinázu (*tk*^{HSV}) pochádzajúceho z viru Herpes simplex, umožňujúci odlišenie buniek vzniknutých homologickou a heterologickou rekombináciou a to vďaka tomu, že tymidínkináza fosforyluje antivirotikum gancyklovir a takto fosforylovaný purínový analóg, včlenený do DNA, ničí hostiteľskú bunku (Snustad, Simmons, 2010). Génový konštrukt totižto môže byť v dedičnej informácii vsadený oboma spôsobmi. Pri heterologickej rekombinácii je umiestnenie génu náhodné a nedochádza preto k vyradeniu sledovaného génu, naproti tomu pri homologickej rekombinácii, ktorá je vzácna (výskyt približne v 1 zo 100 000- 1 000 000 buniek), génový konštrukt vyhľadá svoj odpovedajúci gén, nahradí ho, knockoutuje, pričom v priebehu zabudovania koncová časť nesúca gén (*tk*^{HSV}) odpadne (Petr, 2003). Z toho vyplýva, že ak bunky podstúpili heterologickú rekombináciu, pri prenose do média s neomycínom prežívajú,

avšak médium obsahujúce gancyklovir ich bude zabíjať, naopak bunky s homologickou rekombináciou prežívajú v oboch médiách (Snustad, Simmons, 2010). Z takto vytvorených buniek sa dajú získať zvieratá nesúce knockoutovaný nefunkčný gén buď klonovaním alebo častejšie tvorbou chimér. V druhom prípade postup prebieha s ESC bunkami. Vyselektované ESC bunky s knockout génom pochádzajúce od jedinca s tmavou srstou sa injikujú do blastocyst získaných od svetlých jedincov s následnou implantáciou do tela svetlo zafarbených samíc. Časť potomstva je chimérická, so škvrnitou srstou, a tá podstupuje ďalšie kríženie so svetlými jedincami. Každý získaný tmavý (už nechimérický) potomok sa testuje na prítomnosť knockout mutácie a je opätovne krížený s cieľom získať homozygotnú generáciu. V závislosti na pôvodnej funkcii vyradeného génu môže mať homozygotné potomstvo abnormálny ale i štandardný fenotyp, dokonca ak je funkcia génu nevyhnutná v ranom štádiu vývoja, tak bude homozygotný stav pre embryo letálny (s incidenciou približne 15%). Spomínaná metóda bola vyvinutá na sledovanie expresie génov u myší a takéto knockout myši sa používajú ako vhodné modelové systémy na štúdium vývoja, fyziológie, metabolických dráh, imunitného, nervového systému organizmu, ale i dedičných chorôb u človeka ako napríklad srdečných vývojových vad, niektorých typov onkologických ochorení, kosáčikovitej (česky srpkovité) anémie apod., keďže zdieľajú s ľuďmi veľa spoločných génov (Petr, 2003). V roku 2006 americký inštitút pre zdravie, *National Institutes of Health* - NIH zahájila tzv. *Knockout Mouse Project*, ktorý bol neskôr rozšírený do dnešnej podoby spolupráce tzv. Severoamerického projektu podmienených mutácií u myší spolu s európskou obdobou (anglicky *North American Conditional Mouse Mutagenesis Project*, *European Conditional Mouse Mutagenesis Project*), ktorých cieľom je vytvoriť najmenej jednu knockout mutáciu v každom géne myššieho genómu (Snustad, Simmons, 2010). Existujú tisíce knockout myších modelov využívané na štúdium ľudských chorôb, ako príklad môžeme uviesť štúdiu zaoberajúcu sa knockoutovaním génu pre transmembránový proteín okcludín (OCLN gén). V tomto prípade vedci vytvorili homozygotnú generáciu pochádzajúcu z chimérických myší deficitnú v géne zodpovednom za výstavbu epitelu. Táto strata génu sa fenotypovo prejavila významnou stratou hlavných a parientálnych buniek žalúdka myší, degeneráciou hladkej svaloviny žalúdka s chronickým zápalom sprevádzaným

infiltráciou neutrofilov a lymfocytov. Kosti femuru myší vykazovali istý stupeň osteoporózy apod. Výskum tak poukázal najmä na súvislosť tohto génu v prípade chronických gastritíd (Kanatsu-Shinohara et al., 2006).

- **chimérizmus a xenotransplantácie:**

Jedným z rýchlo sa vyvíjajúcich odvetví je práve oblasť xenotransplantácií, teda transplantácií orgánov, tkanív ale i buniek iných biologických druhov do ľudského organizmu. Najčastejšie ide práve o orgány prasiat vďaka podobnosti s ľudskými orgánmi (Ho, 2000). V roku 2000 medzinárodný časopis Science prvýkrát publikoval prípad klonovaného prasaťa, nesúce meno, ktoré podľa vedcov malo symbolizovať oblasť jeho budúceho využitia, teda Xena (odvodené od xenotransplantácie). Orgány takto získaných prasiat mali byť transplantované ľudským jedincom nutne potrebujúcim transplantáciu istých orgánov (Onishi et al., 2000). Aj napriek úspešnému prípadu klonovania, na to, aby sa predišlo vzniku imunitnej reakcie, čoho následkom by bolo neprijatie transplantovaného orgánu u ľudí, musí byť genóm prasiat poprípadе iných zvierat geneticky modifikovaný. Tejto problematike sme sa ďalej venovali v kapitole pojednávajúcej o bioetických aspektoch xenotransplantácií. Čo sa týka doposiaľ úspešných xenotransplantácií ako príklad môžeme uviesť transplantáciu neurónov mozgu prasacieho plodu u ľudí trpiacich Parkinsonom, transplantáciu srdca, pečene, pľúc, pankreatických ostrovčekov v liečbe diabetes mellitus typu 1 a mnoho ďalších (Cooper, 2012).

2.2.4 Definícia pojmu Mikrochimérizmus

Mikrochimérizmus je jav, pri ktorom dochádza vtedy, ak je konkrétny organizmus kolonizovaný relatívne malým množstvom buniek majúcich iný pôvod. O mikrochimérizme sa dá uvažovať ak množstvo, poprípadе objem „cudzích“ buniek tvorí maximálne 5% z celkových buniek organizmu. Pokiaľ nedôjde k ich odhojeniu, môžu v tkanivách hostiteľa zotrvať rôzne dlhý čas (Filip, Mokry, Hruska, 2006). K mikrochimérizmu najčastejšie dochádza:

- **prirodzene:**

A to najčastejšie vďaka prestupu fetálnych buniek do matkinho organizmu, tzv. fetálnom mikrochimérizme (fenotypovo môže ísť o rozdielne bunky napr. mezenchymálne kmeňové bunky, bunky imunitného systému, bunky trofoblastu, hemopoetické kmeňové či progenitorové bunky, kardiomyocyty (Pritchard et al., 2012). Alebo pri prestupe buniek z cirkulácie matky do fétu, nazývanom tzv. materálny mikrochimérizmus. Jeho incidencia oproti fetálnemu mikrochimérizmu je podstatne nižšia, fenotypovo ide najčastejšie o bunky imunitného systému - T, B lymfocyty, monocyty, či makrofágy a NK bunky (Loubière et al., 2006). Menej často vzniká mikrochimérizmus následkom čiastočnej výmeny buniek pri vývoji dvojčiat

- **umelo:**

Príčinou umelého mikrochimérizmu môže byť napríklad transfúzia krvi, transplantácia najčastejšie kmeňových buniek vrámci terapie, xenotransplantácia buniek poprípade tkanív u ľudí alebo mikrochimérizmus vytvorený vrámci výskumu na zvieracích jedincoch (Filip, Mokřý, Hruška, 2006).

2.2.5 Prirodzený mikrochimérizmus

Formou prirodzeného mikrochimérizmu môže byť fetálny mikrochimérizmus, kedy dochádza k prestupu fetálnych buniek cez placentu do obehu matky. Ide o fyziologický jav, ktorý sa s veľkou pravdepodobnosťou objavuje u všetkých tehotenstiev a môže perzistovať po rôzne dlhý čas, ako ukázal výskum doktorky D. W. Bianchi a jej kolegov. Na základe genetickej analýzy buniek odobratých 32 tehotným ženám a 8 ženám, ktoré porodili mužského potomka (z dôvodu jednoduchšej genetickej detekcie Y-chromozómu) v predchádzajúcom období v rozmedzí od 6 mesiacov do 27 rokov sa zistilo, že v krvi niektorých z nich sa nachádzali hematopoetické prekurzorové CD34+CD38+, či kmeňové CD34+ bunky obsahujúce mužský fetálny Y-chromozóm. Vedci objavili, že tieto fetálne bunky môžu byť prítomné v krvnom obehú žien dokonca aj 27 rokov po pôrode (Bianchi et al., 1996). Za

normálnych podmienok je však prestup fetálnych buniek minimálny, v prepočte s výskytom približne 1 fetálnej bunky na 1 000 000 materských (Filip, Mokry, Hruška, 2006). V určitých prípadoch, kedy je placentárna bariéra narušená (napr. u abnormálnej placenty), čoho dôsledkom je až tisícnásobne väčší prestup buniek z plodu do tela matky a naopak, môže tento prestup vyústiť v preeklampsiu či HELLP syndróm matky charakterizovaný zvýšenými hodnotami pečeňových testov, trombocytopéniou a hemolýzou (Gleicher, 2007). Mikrochimérizmus bol doposiaľ študovaný aj v súvislosti s radou autoimunitných chorôb ako napríklad myozitídy, systémového či neonatálneho lupusu, sklerózy multiplex, Sjögrenovho syndrómu, thyroiditídy, primárnej biliárnej cirhózy, reumatoidnej artritídy (Fred Hutchinson Cancer Research Center, ©2015) atď. V niektorých prípadoch môže byť jedným z dôvodov spustenia určitých ochorení matky, a to najmä vtedy ak sa plodové bunky svojími HLA génmi výrazne líšia od materských. Vedci tým vysvetlili súvislosť mikrochimérizmu a niektorých autoimunitných ochorení vyskytujúcich sa častejšie u žien ako u mužov, objavujúcich sa po pôrode napr. systémová skleróza, reumatoidná artritída, systémový lupus erythematosus či Hashimotovej thyreoiditídy a Graves-Basedowovej choroby (Adams Waldorf, Nelson, 2008). Naproti tomu však paradoxne napríklad u žien s reumatoidnou artritídou došlo počas tehotenstva k zlepšeniu, či dokonca k vymiznutiu choroby (Fred Hutchinson Cancer Research Center, ©2015). Doposiaľ neznámym mechanizmom dokážu haploidentické bunky plodu chrániť telo matky pred rozvojom malígnych nádorov prsníka, pričom bolo objavené, že u žien trpiacich rakovinou prsníka ale i ďalšími malignitami napr. solídnymi, hematologickými malignitami, rakovinou štítnej žľazy bolo množstvo periférne cirkulujúcich fetálnych buniek omnoho menšie ako u žien zdravých (Fugazzola et al., 2011). Jednou z budúcich možností imunoterapie *in situ* (lokálnych) a invazívnych malignít prsníka by mohla byť práve infúzia haploidentických buniek s možnosťou využitia i buniek detského pôvodu (Eun et al., 2013). Istá štúdia ukázala, že bunky plodu dokážu selektívne vyhľadať zranené srdcové tkanivo v tele matky a podstúpiť diferenciáciu v rôzne bunečné srdcové línie a to v endoteliálne bunky, kardiomyocyty a bunky hladkého svalstva. Odpoveďou na zasiahnuté tkanivo (napr. po infarkte myokardu) je mobilizácia fetálnych buniek približne po 4.5 dni od jeho výskytu, pričom sa zvýši ich množstvo v materskom obehu s cieľom

dosiahnuť konkrétnu oblasť v srdci. Až 50% žien s peripartálnym výskytom kardiomyopatie sa zotavilo spontánne pravdepodobne vďaka vštípeniu multipotentných buniek plodu do materského tkaniva srdca s nahradením funkcie poškodených pôvodných buniek (Kara et al., 2011).

Obdobou môže byť materálny mikrochimérizmus. Kedy sú materské bunky, ako výsledok materálneho engraftu (materálneho mikrochimérizmu) pri obojsmernom prechode buniek cez placentu detekované v pupočníkovej krvi novorodencov približne u 0,02 - 5% prípadov s postupne znižujúcim sa množstvom (pretože pri funkčnom imunitnom systéme dochádza k ich potlačeniu detskými T-lymfocyty). Obdobným spôsobom ako u fetálneho mikrochimérizmu ale dokážu i bunky matky zohrávať určitú úlohu pri manifestácii a priebehu niektorých detských ochorení. Známym je prípad chlapca zo Saudskej Arábie trpiaceho ťažkou kombinovanou imunodeficienciou (anglicky severe combined immunodeficiency - SCID). Keďže ide o autozomálne recesívne ochorenie s defektnou funkciou až deficienciou T poprípadne B lymfocytov, je normálne prevádzané ťažkými dlhotrvajúcimi infekciami predovšetkým respiračného systému s úmrtnosťou do jedného roka pri jeho neliečení. V tomto prípade ale klinicky funkčné T, B bunky matky (za normálnych okolností nemajúce výrazný vplyv na priebeh tohto ochorenia, avšak u tohto pacienta išlo o histokompatibilné, haploidentické bunky) nahradzovali funkciu vlastných imunitných buniek dieťaťa, čo sa zo začiatku prejavovalo iba miernymi rekurentnými infekciami no s postupným klesaním ich množstva dochádzalo k deteriorácii samotného ochorenia. Množstvo materálnych mikrochimérických buniek prítomných v krvi novorodencov je u detí trpiacich imunodeficienciou až 24 - 40% (Al - Muhsen, 2010). Podobne ako pri fetálnom mikrochimérizme, i v tomto prípade spomínaný zvýšený počet mikrochimérických buniek v tele dieťaťa môže mať aj pravdepodobnú súvislosť s expresiou niektorých autoimunitných ochorení i keď presný mechanizmus nie je ani v dnešnej dobe vedcom známy (Leveque, Khosrotehrani, 2014).

Čo sa týka prechodu buniek počas vnútromaternicového vývoja dvojčiat, ukázalo sa že, placenta aj keď tvorí akúsi bariéru medzi matkou a plodom počas tehotenstva, umožňuje prechod buniek z matky do plodu a naopak, ale

taktiež prechod buniek medzi vyvíjajúcimi sa plodmi súčasne. Boli zaznamenané prípady kedy v krvi žien, ktoré nikdy porodili, či nepodstúpili interrupciu ani spontánny potrat, boli nájdené bunky s Y - chromozómom. To mohlo byť následkom práve výmeny buniek medzi krvou spoluvyvíjajúcich sa dvojčiat (aj v prípade, že daná žena nemala súrodenca, brata kedy mohlo ísť o jej zaniknuté dvojča) alebo mohlo ísť o prenesené bunky zotrvávajúce v placente matky z predchádzajúceho pôrodu mužského potomka. Pokiaľ ide o výmenu buniek medzi jednovaječnými dvojčatami, názor vedcov sa značne líši. Niektorí považujú prechod z jedného dvojčaťa do druhého za istú formu mozaicizmu keďže nesú rovnaký genetický materiál, iný ho odlišujú a nazývajú chimérizmom či mikrochimérizmom. Tento problém pochopiteľne odpadá u dvojvaječných dvojčiat (Waszak et al., 2013).

2.2.6 Umelo navodený mikrochimérizmus

Mikrochimérizmus môže okrem transplantácie krvných buniek u traumatizovaných pacientov, či pacientov pred chirurgickým zákrokom spôsobiť i transplantácia kmeňových buniek (nazývaná tiež transplantácia kostnej drene či transplantácia krvotvorných buniek v závislosti od zdroja buniek) a to injekciou alebo infúziou zdravých kmeňových buniek do tela najčastejšie s cieľom nahradiť bunky vlastné. Táto procedúra môže byť potrebná pri podaní vysokej dávky chemoterapie alebo rádiácie. O mikrochimérizme sa v tomto prípade hovorí ak sú pri transplantácii využité kmeňové bunky od alogenného dárca. Viaceré výskumy taktiež ukázali, že po transplantácii kmeňových buniek získaných či už z krvi dárca (ide o hematopoetické kmeňové bunky) alebo jeho kostnej drene (hematopoetické a mezenchýmové kmeňové bunky), môže dôjsť ku zlepšeniu niektorých autoimunitných či kardiovaskulárnych ochorení príjemcu. Mikrochimérizmus odvodený od týchto kmeňových buniek bol nájdený v rade tkanív príjemcov. Simon D. Tran, Robert S. Redman a kolegovia pracovali na výskume zaoberajúcim sa mikrochimérizmom v slinných žľazách žien po transplantácii kmeňových buniek pochádzajúcich od mužského dárca, pričom zistili

prítomnosť mikrochimérických buniek (približne 1%) s Y - chromozómom rozptýlených v ich slinných žľazách. Výskum načrtol možnosť liečenia istých ochorení slinných žliaz ako Sjögrenovho syndrómu mikroinjekciou buniek do duktálneho kmeňa slinnej žľazy, či ochorení následkom iradiácie pri liečbe rakoviny v oblasti krku a hlavy, pričom mechanizmus účinku tohto, transplantáciou navodeného, mikrochimérizmu je potencionálne vštípenie dárcovským buniek cielene do miesta určitého zranenia či dysfunkcie tkaniva. V tomto prípade ide pritom o schopnosť buniek odvodených z kmeňových buniek dárca diferencovať sa fenotypovo v epiteliálne bunky spomínaných slinných žliaz ale i mnohých iných tkanív (Tran et al., 2011).

2.2.6.1 Využitie mikrochimérizmu vo výskume

V deväťdesiatych rokoch minulého storočia Ralph Brinster spolu s kolegami z Veterinárnej fakulty Pensylvánskej univerzity vo Filadelfii prvýkrát publikovali výsledky pokusu zaoberajúcim sa obnovou tvorby spermií v semeníkoch myší (Brinster, Avabrock, 1994). Postupne sa tak ukázalo, že myši sú vhodným organizmom poskytujúcim prostredie pre vývoj spermií a to nie len vlastného druhu ale i iných cicavcov. Prenosom týchto buniek je možné získať mikrochimérickú myš produkujúcu v semeníkoch spermie iného druhu, či dokonca schopnú plodiť potkanie či škrečie mláďatá. V niektorých prípadoch ale tvorba spermií z transplantovaných zárodočných buniek neprebíha dokonca. Semenníky myší nedokážu vytvoriť vhodné prostredie pre kompletný vývoj rady cudzích živočíšnych druhov (najčastejšie ide o väčšie druhy ako vyššie spomínané kance, býky a žrebce) I napriek tomu sa v nich pohlavné bunky množia a prekonávajú časť svojho vývoja, čo je pre vznik budúceho potomstva väčšinou postačujúce. Prenos spermatogónii môže nájsť svoje uplatnenie v humánnej medicíne kde by takýto tzv. mikrochimérický nosič spermatogónií ponúkol šancu mužom (prevažne s nádorovým ochorením podstupujúcimi chemoterapiu a rádioterapiu) mať v budúcnosti vlastných potomkov (namiesto kryokonzervácie odobratých spermií) po odobratí spermií či spermatíd z myších samcov a *in vitro* fertilizácii - IFV vajíčka partnerky pacienta. Taktiež u žien je

liečba nádorových ochorení zväčša sprevádzaná masovým zánikom vajíčok vo vaječníkoch. Narozdiel od mužov je u žien kryokonzervácia vajíčok značne obtiažna keďže ide o najväčšie bunky tela preto pripadá do úvahy práve využitie mikrochimérických laboratórnych zvierat (Petr, 2003). Proces ale prebieha odlišne ako v prvom prípade, s umiestnením ľudského štetu tkaniva odobratého z vaječníku do chrbtových svalov imunodeficientných myší. Ľudské tkanivo má v myších svaloch optimálne prostredie, s dostatočným prekrvením a zásobou živín. Po hormonálnej stimulácii myššieho nosiča podaním konského gonadotropínu alebo v kombinácii s ľudským choriových gonadotropínom došlo k dozrievaniu ľudských vajíčok v myších svaloch (Soleimani et al., 2010). Z týchto vajíčok by sa v laboratórnych podmienkach IFV dali získať ľudské zárodky, ktoré by mohli byť prenesené do tela matky. Procedúra by mohla byť využitá i u žien s menopauzou poprípade u mladých žien neschopných ovulácie, kde by bol vaječníkový štep spätne prenesený do tela ženy, čím by sa normalizoval jej hormonálny stav (Petr, 2003).

2.2.6.2 Využitie mikrochimérizmu pri xenotranslantácii buniek či tkanív

Riešením nedostatku ľudských darcov orgánov či tkanív je práve možnosť xenotransplantácií. V našej práci uvádzame príklad dvoch z nich. Štvorročná štúdia Rafaela A. Valdés-Gonzáleza a kolegov sa zaoberala liečbou diabetu mellitu typu 1 pomocou xenotransplantácií. V súlade s ňou, diabetes je možné liečiť bez použitia imunosupresív, prostredníctvom transplantácie prasačích Langhersových ostrovčekov. Vedci použili novú metódu ochrany ostrovčekov novonarodených prasiat prostredníctvom ich kombinácie so Sertolliho bunkami semenotvorných kanálikov majúcimi imunomodulačnú aktivitu a využitím zkonštruovaného subkutánneho zariadenia generujúceho autológny kolagén umiestneného do prednej brušnej steny pacientov dva mesiace pred vlastným zákrokom umožňujúceho takto tvorbu kolagénového tkaniva chrániaceho xenotransplantát. Výsledkom štúdie bol pozitívny efekt xenotransplantátu na metabolickú kontrolu diabetu u väčšiny sledovaných pacientov (Valdés-González, 2005). Ďalším z možných využití zvieracích orgánov, či buniek je

využitie napríklad prasacích neurónov u Parkinsonovej choroby, hepatocytov u zlyhávania pečene, či dokonca obličiek (česky ledvin) srdca a mnoho ďalších. Prebiehajúce štúdie sú ale v dnešnej dobe skôr zamerané na prevenciu hyperakútnej reakcie proti xenotransplantátu a ostatným rizikám spojeným s prenosom zvieracieho materiálu (Ekser et al., 2012). Do oblasti xenotransplantácii môžeme zaradiť aj transplantácie kmeňových buniek zvieracieho pôvodu. Údaje výskumu doktora J. S. Finksa a kolegov týkajúce sa transplantácie xenogénnych neurálnych buniek s prasačím pôvodom do mozgu človeka ešte z roku 2000 ukázali až 30% zlepšenie u pacientov s Parkinsonovou a Huntingtonovou chorobou (Fink et al., 2000). Problém však vyvstal s potencionálnym rizikom prestupu zoonóz na človeka a tak sa štúdie orientujú v súčasnosti predovšetkým na zvieracie modely a najmä primátov.

2.3 Bioetika chimérizmu a mikrochimérizmu

Etické diskusie týkajúce sa vývoja a využitia chimér či mikrochimér vo výskume, poprípade v klinickej praxi čelia sérii závažných problémov. Aj vďaka rýchlo postupujúcemu vývoju vedy ako takej, len málo sa v skutočnosti vie o možných cieľoch výskumu či technických, politických a sociálnych dopadoch na ľudskú spoločnosť. Pri bioetickom zvažovaní tak obširnej tematiky musia byť prehodnotené zásadné výhody, riziká, morálne dôsledky a to v krátkom i dlhodobom časovom období. Okrem toho sa tvorba chimérických jedincov dotýka mnohých bioetických tém, ako napríklad témy transplatnácií zvieracích buniek tkanív či orgánov (Taupitz, Weschka, 2009), ktorým sa v našej práci budeme venovať v samostatnej kapitole, etiky práv zvierat, výskumu na ľudských subjektoch, výskumu na embryách, potratov apod.

Doposiaľ neboli vytvorené žiadne vedecké ani legislatívne terminologické zásady, ktoré by platili medzinárodne (Jones, Mackellar, 2012), tobôž všeobecne prijateľná normatívna koncepcia, ktorá by umožnila posúdenie týchto nových technológií. Konvenčné štandardy pre morálnu evalváciu práce s ľudskými subjektami či zvieratami predpokladajú jasne určené hranice medzi jednotlivými jednotlivcami, preto v tomto prípade častokrát strácajú svoju aktuálnosť a využiteľnosť a tak musia byť spomínané technológie samostatne bioeticky ohodnotené. Tieto bioetické stanoviská sa však vždy týkajú umelo vytvorenej formy chimérizmu či mikrochimérizmu, keďže jeho prirodzená forma so sebou pochopiteľne nenesie obdobné etické dilemy (Taupitz, Weschka, 2009).

V našej práci sme sa venovali bioetickým aspektom chimérizmu a mikrochimérizmu v dvoch samostatných kapitolách a to tvorbe chimérických jedincov vrámci výskumu a ich tvorbe prostredníctvom xenotransplantácií.

2.3.1 Bioetika vytvárania chimérických i mikrochimérických jedincov vo výskume

2.3.1.1 Základné identifikované bioetické aspekty

Z etického pohľadu to, aby nejaký výskum nesúci značné bioetické znepokojenia vôbec prebiehal, je dôležité aby takýto výskum mal svoje opodstatnenie a jeho osoch bol väčší ako jeho potencionálne riziká. Existuje rada dôvodov a možných využití výskumu a preto uvádzame najdôležitejšie z nich:

- tvorba *in vivo* modelov pre testovanie liekov
- tvorba *in vivo* modelov na sledovanie priebehu niektorých ľudských chorôb
- tvorba *in vivo* modelov na sledovanie diferenciácie napríklad neuronálnych ľudských buniek (Taupitz, Weschka, 2009)
- testovanie pluripotencie ľudských kmeňových buniek *in vivo* a objasnenie priebehu ich diferenciácie a regulácie diferenciácie *in vivo* a mechanizmu bunečnej lokalizácie v host'ovskom organizme (Jones, Mackellar, 2012)
- tvorba zvierat nesúcich tzv. humanizované orgány z ľudských tkanív ako darcov pre transplantácie
- štúdium možných génových terapií ľudských embryí v ranom štádiu vývoja počas IFV procesu
- liečba nenarodených detí s genetickými defektami *in utero*
- štúdium faktorov ovplyvňujúcich interakcie medzi embryom a uterusom v odlišných druhoch, štúdium embryogenézy
- genetické výskumy a štúdiá mutácii založené na pozorovaní abnormálnej chromosomálnej konštitúcie u niektorých chimérických embryí, napríklad rozlíšenie primárnych a sekundárnych defektov pri mutáciách
- štúdium vývoja a diferenciácie tkanív a orgánov a dôležitosti uplatnenia sa medzidruhových genetických faktorov

- štúdium ľudského imunitného systému, a onkogenézy (Taupitz, Weschka, 2009).

Naproti tomu, existuje celá rada bioetických obáv spojených s tvorbou chimérických jedincov a jej možným dopadom. Tieto znepokojenia sú hlavným predmetom bioetických diskusií. Ide menovite o:

- problematiku terminológie vo vedeckom prostredí a zákonodarstve s možným rizikom využívania tzv. legislatívnych škár v zákonoch jednotlivých štátov na základe nejednotnej terminológie
- etické problémy týkajúce sa morálneho statusu jedinca a jeho identity, psychologických a sociálnych následkov
- zvieracie práva
- problematiku využitia ľudských embryí a ich cielenej deštrukcie
- náboženské presvedčenie ľudí
- environmentálne dôsledky
- možnosť prenosu niektorých chorôb na základe porušenia špecifických bariér
- morálne aspekty etiky výskumu
- pravdepodobnosť vytvorenia konkrétneho chimérického jedinca
- etické obavy ohľadom prevahy ľudských nervových a zárodočných tkanív a ich možné dôsledky (Taupitz, Weschka, 2009).

- problematika terminológie a legislatívy

Pomerne závažným zistením je skutočnosť, že termíny všeobecne označujúce ľudsko - zvieracie kombinácie ako chiméra, hybrid sú užívané rôznymi spôsobmi, v rozličných disciplínach a kontextoch, pomenujúc tak odlišné veci. Tieto terminologické nepresnosti sú medzi vedcami i v legislatívach používané mnohokrát nejednoznačne čo vytvára zmätok pri bioetickom posudzovaní konkrétnych prípadov i možnosť nelegálneho výskumu. Preto je pred samotným započatím etickej diskusie dôležité významovo odlíšiť, uspresniť a zjednotiť termíny. Pojmy hybrid a chiméra je častokrát obtiažne diferencovať i keď pôvodne hybrid označoval jedinca, ktorý vznikol medzidruhovým krížením medzi jedincami iného biologického druhu

a chiméra potom jedinca, majúceho v tele odlišné bunečné populácie odvodené z rozdielnych zygot, kde preto môže ísť ako o vnútroduhového (zygoty pochádzajú od jedincov rovnakého biologického druhu) tak medziduhového jedinca. Hybrid teda obsahuje jednu bunečnú populáciu vzniknutú kombináciou genetického materiálu od odlišných druhov. Nástup moderných techník embryológie však tieto rozdielnosti značne zmazal. Chiméra môže byť i hybridom a to vtedy, ak po prijatí cudzích buniek dochádza k ich čiastočnej fúzii s host'ovskými bunkami. Tieto naoko malé odlišnosti ale so sebou prinášajú odlišné bioetické problémy, ktoré by mali byť u vzniknutých jedincov pomenúvané osobitne (Taupitz, Weschka, 2009). Najzávažnejším je definovanie kombinácií kde jednou zo zložiek je ľudský biologický materiál. Preto mnoho autorov pri definovaní chimér zachádza omnoho hlbšie ako len k určení, či ide o medziduhového, či vnútroduhového jedinca, chiméru či hybrida (Bonnicksen, 2009) a delí ich do troch štádií vývoja (embryonálneho, fetálneho a postnatálneho) (Jones, Mackellar, 2012) a na základe kritéria obsahu a množstva ľudského materiálu. Tým vzniká triedenie jedincov na štyri druhy vytvorených chimér (Bonnicksen, 2009). Tieto kategórie, ktorých sa budeme pridržať v rámci tejto práce zobrazuje tabuľka č. 1.

Biologický materiál	Prevládajúci zvierací biologický materiál	Prevládajúci ľudský biologický materiál
Zvierací biologický materiál	Zvieraco - zvieracia chiméra	Ľudsko - zvieracia chiméra
	- embryonálne - fetálne - postnatálne štádium	- embryonálne - fetálne - postnatálne štádium
Ľudský biologický materiál	Zvieraco - ľudská chiméra	Ľudsko - ľudská chiméra
	- embryonálne - fetálne - postnatálne štádium	- embryonálne - fetálne - postnatálne štádium

Tabuľka č. 1: Kategórie chimér na základe prevládajúceho biologického materiálu

Pomenovanie ľudsko - neľudských kombinácií je vôbec najväčšou výzvou, pretože ak by tieto kombinácie neboli správne a vhodne opísané, bolo by nejasné do akej kategórie jedinec vôbec patrí a či jeho vznik pokrývajú zákony týkajúce sa človeka, ktoré sú všeobecne prísnejšie či zvierat (Jones, Mackellar, 2012). Taktiež by mohlo dochádzať k snahe zainteresovaných ľudí o začlenenie konkrétnych vzniknutých chimér do kategórie nesúcej obvykle menšie etické dilemy, čo by im umožňovalo pokračovať aj vo výskume, ktorý by nemal byť povolený. Reálnou je i možnosť tzv. vedeckého turizmu. Ide o premiestnenie výskumu do iného štátu kde by bol jeho priebeh legálny. Z toho dôvodu je všeobecným cieľom zaviesť viac či menej jednotný normatívny rámec napríklad vrámci celej Európskej únie. To ale vyžaduje nájdenie akéhosi „štandardu“ uznateľného všetkými členskými štátmi. Ak by sme predstavu tejto „harmonizovanej“ regulácie posunuli na celosvetovú úroveň, stáva sa ešte obtiažnejším daný cieľ uskutočniť. Zdá sa však veľmi nepravdepodobné, že podobný konsenzus by mohol byť dosiahnutý v dohľadnej budúcnosti kvôli kultúrnemu a náboženskému pluralizmu hodnôt a noriem. Táto snaha o konsenzus ale prináša risk prijatia čo najnižších požiadaviek tak, aby sa súhlasne vyjadrili všetky štáty, i tie, ktoré by prísnejšie navrhované pravidlá nepodporovali (Taupitz, Weschka, 2009). Preto je najmä dôležité umožniť priebeh medzinárodných bioetických diskusií a konzultácií na danú tematiku s akceptovaním morálnej i normatívnej mnohotvárnosti v tomto poli výskumu a preskúmať možné oblasti dohody (Jones, Mackellar, 2012).

- etické problémy týkajúce sa morálneho statusu a identity

Etické analýzy či chimérickí jedinci obsahujúci ľudské bunečné populácie patria medzi ľudí sú dôležitým bioetickým aspektom, ktorý však často nemôže byť zodpovedaný ani vedeckou spoločnosťou. Ešte obtiažnejším sa javí definovanie či týmto jedincom prislúcha ľudská dôstojnosť, poprípade do akej miery by im mala byť udelená, keďže sama o sebe nie je vedeckým termínom. Level „ľudskosti“ môže byť vyšší či nižší v závislosti na štádiu vývoja a príspevku ľudských komponentov v chimére, no i tak neexistuje jasné vymedzenie, či vedecká definícia ľudskej ríše a príslušnosti k nej. Odborná i laická verejnosť preto kladie nasledujúce otázky. Čo v skutočnosti znamená ľudská a zvieracia prirodzenosť? Ako ju definujeme? Aký je vzájomný vzťah

medzi nimi? Čo je pre nich spoločné? Kde sú hranice medzi týmito ríšami? Môžu sa tieto hranice prekračovať? Do akej miery? Čo utvára ľudskú identitu a dôstojnosť? Až po zodpovedaní týchto základných otázok sa môže predmetom skúmania stať morálny status potencionalnej humanoidnej chiméry. Spoločnosť sa ale pri tomto bioetickom zvažovaní musí pripraviť na zodpovedanie otázok ako sa v budúcnosti zachovajú ľudské práva a dôstojnosť v prípade ak pojem „ľudskosť“ nebude viac výlučne označovať ľudskú rasu alebo čo znamená nie-plne-ľudský jedinec (Taupitz, Weschka, 2009).

Keďže sme chimérických jedincov rozdelili do štyroch kategórií (zvieraco - zvieracia chiméra, zvieraco - ľudská chiméra, ľudsko - zvieracia chiméra, ľudsko - ľudská chiméra) je zjavné, že morálny status daných jedincov sa bude viac či menej líšiť. Zvieraco - zvieracej chimére sú prisudzované rovnaké práva ako ostatným zvieratám, obdobne potencionalne ľudsko - ľudské chiméry by mali pravdepodobne rovnaký morálny status ako človek, či ľudské embryo. Zvyšné dve kategórie je však veľmi ťažko odlúčiť, zdefinovať a rozhodnúť aký morálny status by mal výsledný jedinec, pretože distribúcia jednotlivých bunčných populácií v chimére je často náhodným procesom a neexistuje presné pravidlo určujúce výslednú prevládajúcu bunčnú populáciu. U primárnych chimér kde sú bunky od cudzieho druhu kombinované v embryonálnom štádiu blastocysty (v ranom embryu pozostávajúceho z 50 - 100 buniek) je podiel darcovských buniek (zvieracích či ľudských, v závislosti od výskumu) v embryu zväčša omnoho vyšší než u chimér sekundárnych, kde vytvorenie chimérického jedinca prebieha v neskoršom embryonálnom štádiu, poprípade až postnatálne (Jones, Mackellar, 2012). No i napriek týmto zisteniam stojí odhad výsledného jedinca vždy v teoretickej rovine.

Morálny status jedinca, podľa racionálneho pohľadu pochádza z prítomnosti morálne relevantných ľudských charakteristík akými su vedomie vlastného ja, rozumového zmýšľania, emocionálneho vcítenia apod. Avšak etické zhodnotenie určitého výskumu prebieha hypoteticky na základe predpokladov, ešte pred jeho samotným započatím, kedy tieto črty u jedinca (v embryonálnom, fetálnom poprípade ranom postnatálnom štádiu) nie sú doposiaľ prítomné a uvažuje sa len o potencionalne chiméry ich vyvinúť.

V prípade nemožnosti prejať ľudské jedinečné črty potom ide o relevantnú záležitosť, v opačnom prípade nasleduje posúdenie morálneho statusu vývojového štádia jedinca (Taupitz, Weschka, 2009). Do dnešnej doby sa výskum chimér obsahujúcich ľudské bunky populácie týka len embryonálneho štádia čo je všeobecne vnímané ako menej kontroverzné. Boli vytvorené napr. chiméry spojením ľudských a prasacích, kozích, opičích, ovčích, myších, potkaních a kuracích komponentov (Taupitz, Weschka, 2009). No prípade narodenia chimérického jedinca schopného uvedomovania si samého seba, je veľmi potrebné zvážiť psychologické a sociálne problémy s tým spojené. Akým spôsobom by spoločnosť prijala konkrétnu bytosť? Mala by spoločnosť tendenciu diskriminovať nie - plne - ľudských jedincov (Jones, Mackellar, 2012)? Je viac ako pravdepodobné, že jedinci by mali významné problémy so sebaidentifikáciou a zaradením sa do spoločnosti.

- etické obavy týkajúce sa prevahy ľudských buniek v nervových a zárodočných tkanivách

Zvlášť veľké obavy so sebou nesie možnosť prevahy ľudských buniek v mozgu a pohlavných žľazách chiméry. Domnelé etické obavy ohľadom nervových a zárodočných tkanív oproti iným telesným tkanivám si vyžadujú ďalšie bioetické skúmanie, no hlavným problematickým aspektom je viac technická otázka či je pravdepodobné, že by to malo za následok práve prejav ľudských charakteristík a ich dedenie v budúcich generáciách. Toto znepokojenie nie je len problémom zvieraco - ľudských ale i ľudsko - zvieracích chimér a to nielen pri samotnom vytváraní embryí, no i pri výskume na dospelých jedincoch. Výskum, v ktorom sú napríklad ľudské kmeňové či progenitorové pluripotentné bunky zavedené do zvieracieho mozgu za účelom vytvorenia akéhosi modelu na štúdium opravných a regeneratívnych procesov síce môže prispieť k boju proti neurodegeneratívnym chorobám, no na druhej strane vedci dodnes nevedia predpokladať jeho následky na zvierati. V tomto prípade môže dôjsť k etickému rozporu, či je zabitie týchto jedincov počas výskumu ešte ospravedlniteľné ak by boli u neho pozorované niektoré špecificky ľudské vlastnosti a či má jedinec väčšie právo na život pri rastúcich známkach ľudskosti. Aj kvôli tomu by takéto pokusy by mali byť vždy

vykonávané len po starostlivom zhodnotení interdisciplinárnej etickej komisie (Jones, Mackellar, 2012).

- **etika výskumu využívajúceho zvieratá**

Táto oblasť etiky zohľadňuje viacero okruhov dotýkajúcich sa výskumu na zvieratách a to možnú bolesť a utrpenie zvierat, ich nahraditeľnosť vo výskume, inštrumentalizáciu života a jeho kvalitu, narušenie druhovej integrity zvierat a znehodnotenie života. Posledné dva spomínané vyvstávajú špeciálne v súvislosti s výskumom v oblasti chimérizmu, ostatné sú súčasťou každého zvieracieho výskumu (Taupitz, Weschka, 2009). I keď najkritickejšie ohlasy ohľadom tvorby chimérických jedincov poukazujú na dopad takéhoto výskumu na ľudských jedincov, čoraz viac sa pozornosť venuje aj potencionálnym škodlivým dôsledkom práve na zvieracích jedincov a ich blaha. Vo väčšine prípadov sú tieto dôsledky minimálne napríklad pri zničení myších embryí, plodov ešte predtým ako sa i nich vyvinie zreteľné vedomie (Bonnicksen, 2009). Druhovú integritu zvierat a pochopiteľne i ľudí je pri prekročení druhových hraníc zjavne narušená. Vzniknutý jedinec by mal pravdepodobne veľké problémy zaradiť sa do jednej z ríš čo by malo i psychologický a sociálny dopad a tým znehodnotenie zvieracieho života (Taupitz, Weschka, 2009). V prípade narušenia čo len jednej z vymenovaných oblastí, viacerí autori navrhujú určité opatrenia alebo obmedzenia konkrétnych postupov eventuálne celého výskumu. Pri tzv. vyšších zvieratách akými sú primáty, s väčším stupňom senzitivity, sa objavili reálne obavy, že táto skupina zvierat by mohla prostredníctvom chimérického výskumu rozvinúť a vykazovať znaky typické človeku. Aj to je dôvodom prečo mnohí autori navrhujú všeobecný zákaz pokusov na neľudských primátoch (Jones, Mackellar, 2012).

- **etika výskumu s ľudskými embryonálnymi bunkami**

Mnoho bioetických problémov bolo identifikovaných práve s využitím ľudských embryí v medicíne a výskume a to najmä z toho dôvodu, že podľa mnohých autorov a širokej verejnosti ide o plnohodnotný ľudský subjekt, s definovanou identitou, vďaka čomu by si mal zaslúžiť úctu ako ktorýkoľvek iný ľudský jedinec. Problémom je najmä získavanie a práca s kmeňovými bunkami s najvyšším stupňom plasticity a teda embryonálnymi pluripotentnými bunkami

namiesto tkáňovo - špecifických multipotentných buniek akými sú napr. hematopoetické kmeňové bunky. Keďže táto problematika sa netýka len chimérického výskumu a tvorby chimér, vyvstala dávno pred ich možným využitím práve v tejto oblasti a to napríklad pri IFV a transplantácii derivátov embryonálnych ale i pluripotentných kmeňových buniek u rady chronických ochorení (diabetes mellitus, Parkinsonova choroba, traumatické poranenie miechy, Purkynova bunková degenerácia, zlyhávanie pečene, srdca, Duchennena muskulárna dystrofia ai.) vrámci cielenej terapie, či využitie embryonálnych kmeňových buniek získaných z umelého prerušenia tehotenstva u iného výskumu. Už v minulom storočí bolo identifikovaných viacero bioetických aspektov dotýkajúcich sa tejto témy. Medzi najzávažnejšie a najčastejšie kladené patria otázky o hodnote ľudského života a zániku embrya pri odobratí ESC buniek. Je eticky prístupné vytvárať ľudské embryá k príprave ESC buniek? Je embryo samostatná ľudská bytosť majúca svoje práva? Od ktorého vývojového štádia embryu prislúchajú patričné práva? Existujú isté riziká spojené s využívaním ESC buniek? Môžu byť ESC bunky použité k spomínanej tvorbe identických jedincov v procese klonovania alebo k tvorbe chimér, či k inej forme výskumu? Pre kresťanov je hodnota ľudského embrya potvrdená už od počiatku Magistériom Cirkvi v encyklike Jána Pavla II *Evangelium Vitae* z roku 1995, ktorá učí, že ľudský plod má od okamžiku svojho vzniku nárok na úctu zhodnú s úctou proukázanou každému človeku. Patria mu teda práva osoby a teda právo na život. Títo či iní zástancovia tohto tzv. pro life názoru argumentujú tým, že embryo v sebe nesie kompletnú genetickú informáciu už momente svojho vzniku a že samotná fertilizácia je tak zložitý a špecifický akt, že zaberá niekoľko hodín (Bryant, La Velle, Searle, 2005) a tak by žiaden výskum na ľudských embryách nemal byť povolený. Judaizmus a Islám naopak zdôrazňujú, že je dôležité pomáhať druhým, a keďže embryo nemá podľa ich náuky plné ľudské postavenie pred 40 dňami svojho vývoja, obe tieto náboženstvá do istej miery dovoľujú nejaký výskum s embryami a ESC bunkami. Avšak odborná spoločnosť dlho rozoberala začiatok existencie človeka a vybrala uvedenú hranicu 14 dní vývoja kedy zárodok nemá žiaden centrálny nervový systém a zmysly či dokonca nemôže dôjsť k jeho rozdeleniu a tým vytvoreniu identických dvojčiat. Embryo v počiatočných fázach nie je preto jasne definované ako fyzická osoba (plod) a preto i výskum a akákoľvek

manipulácia môže prebiehať do tohto procesu jeho vývoja (EuroStemCell, 2011). A tak boli spoločnosťou prijaté striktné, všeobecne platné pravidlá manipulácie s embryami vo výskume a medicíne, ktorými sa riadi i chimérický výskum a to:

- zákaz výskumu na embryu staršom ako 14 dní
- zákaz komercializácie výskumu na kmeňových bunkách
- vylúčenie možnosti, že daný výskum nezískal overiteľný platný informovaný súhlas darcov vajíčok a spermií
- nutná procedúra schvaľovania prebiehajúca hneď v niekoľkých hladinách (napríklad vylúčenie nedostatku podaných informácií a zamýšľaných postupov, zneužitie deficitu času) k udeleniu konečného súhlasu pre zahájenie určitých manipulácií s embryami (Filip, Mokrý, Hruška, 2006).

V Európe úplný zákaz výskumu je v Rakúsku, Litve, či Írsku. V Taliansku, Nemecku a Portugalsku je síce derivácia embryonálnych ESC buniek zakázaná no v Taliansku a Nemecku je povolené používať dovezené ESC bunky pre výskum. Pravidlo 14 dní platí napríklad v Bulharsku, Fínsku a Grécku Veľkej Británii (EuroStemCell, s.a.) a v USA (Jones, 2000), či Japonsku, Južnej Kóree, Číne, Austrálii, Singapúre, Indii a Izraeli (Ishii et al., 2013). Vo Švajčiarsku sú podmienky sprísnené a výskum môže prebiehať na embryách nie starších ako 7 dní. Toto rozhodnutie vzniklo ako výsledok referenda v krajine pričom na otázku či sa 7 dňové embryá môžu využívať na výskumné účely, odpovedalo až 66% obyvateľstva kladne (Vácha, Königová, Mauer, 2012). V Českej republike výskum na ľudských ESC bunkách reguluje zákon prijatý v roku 2006 *Zákon o výskumu na ľudských embryonálnych kmenových buňkách*. Podľa neho výskum na ESC bunkách môže byť vykonávaný na líniiach buniek, ktoré boli dovezené do krajiny, alebo boli odvodené z prebytočných embryí IVF nie starších ako 7 dní. Je ním vyžadovaný informovaný súhlas darcu. Výskum ESC je povolený, ak sa preukáže, že bude využívať také vedecké alebo lekárske poznatky, ktoré by mohli viesť k vývoju nových spôsobov liečby a liekov proti závažným chorobám, a v prípadoch, kedy prínos vo výskume nemožno dosiahnuť inými metódami. Taktiež vrámci výskumu na ESC bunkách nesmie dôjsť k žiadnym

manipuláciám, ktoré by viedli k vytvoreniu nového jedinca a preto vytváranie chimérických jedincov či reprodukčné klonovanie nie je v krajine povolené (Zákon č. 227/2006 Sb., v platnom znení). V súvislosti s nadobudnutím účinnosti zákona bola v krajine zriadená *Bioetická komise Rady pro výzkum, vývoj a inovace*, ktorá je jej poradným i odborným orgánom (Rada pro výzkum, vývoj a inovace, ©2013a). Okrem toho v krajine bude výskum a užitie ľudských embryonálnych kmeňových buniek - hESC (anglicky human embryonal stem cell) i naďalej ovplyvňovať *Etická komise Ministerstva zdravotnictví* a lokálne etické komisie (Filip, Mokřý, Hruška, 2006).

- pohľad hlavných náboženských smerov

Skutočnosť, že výskum týkajúci sa tvorby chimérických jedincov so sebou prináša i možnosť ľudsko - neľudských kombinácií zdvihla vlnu obáv zo strany verejnosti. Jednotlivé náboženské smery majú na danú problematiku vlastný postoj a preto uvádzame prehľad hlavných svetových názorov sa o nich opierajúcich.

Čo sa týka kresťanstva, väčšina kresťanov verí, že ľudské bytosti sú stvorené na obraz Boha čo im dáva unikátny a špeciálny morálny status, väčší než u ostatných tvorov. Z tohto dôvodu sú extrémne znepokojujúcimi užitie či produkcia veľkého množstva ľudsko - zvieracích embryí, ktoré by mohli potencionálne mať plný morálny status keďže by boli nevyhnutne určené k zániku. A i napriek tomu, že väčšina takýchto ľudsko - zvieracích kombinácií má alebo by mala charakteristiku zvierat, z kresťanského pohľadu je zásadné práve ničenie ľudských embryí počas výskumu. Kresťanstvo rovnako poukazuje i na spomínané bioetické problémy, akými sú narušenie prirodzených medzidruhových hraníc s následnými fyzickými, psychologickými a sociálnymi dopadmi, či na etiku práv zvierat. Aj keď mnoho kresťanov uznáva užitočnosť medzidruhového výskumu za určitých okolností, mnoho z nich verí, že ak morálny status zamýšľaného tvora nemôže byť posúdený pred jeho vlastným vytvorením, potom je to dostačujúci argument proti jeho tvorbe. Tento názor zastávalo i valné zhromaždenie *the Church of Scotland General Assembly* vo svojej správe *Deliverances* z roku 2006, v ktorej sa vyjadrilo nesúhlasne

k akejkolvek produkcii partenogenetických, hybridných a chimérických ľudsko - zvieracích embryí (Jones, Mackellar, 2012).

V budhizme sú medzidruhovú rozdiely chapané odlišne podľa tradičnej viery v karmu a reinkarnáciu. Presvedčenie, že človek môže existovať i vo forme zvierat a preto prináša na rozdiel od monoteistických semitských náboženstiev omnoho zásadnejší dôraz na neškodenie zvieratám. Preto experimentovanie ústiace k ničeniu embryí či už ľudských alebo zvieracích (v prípade Budhizmu je námietka na ničenie zvieracieho života omnoho silnejšia ako v Kresťanstve) by bolo nemorálnym aktom. Budhizmus nabáda vedcov k hľadaniu alternatívnych nedeštruktívnych a nezávadných spôsobov, ktoré by viedli k liečbe genetických a ďalších ochorení (Jones, Mackellar, 2012).

Z pohľadu islámu sa kladie do úvahy obzvlášť rozmer a rast vedomia seba samého vo vytvorenej bytosti. Ľudsko - zvieracie kombinácie by mohli byť užitočné a samotný Islám schvaľuje možné zásahy človeka vrámci výskumu. Dôležitým ale je zachovať prirodzený priebeh vyvoja uvedomovania si seba samého vo všetkých bytostiach aj vo výskume (Jones, Mackellar, 2012). I preto Islám povoľuje výskum na embryách obsahujúcich ľudské komponenty, ktorý by sa končil ich cielenou deštrukciou maximálne do 40 dní vývoja (EuroStemCell, 2011).

Obavy judaizmu na túto tému sa týkajú v prvom rade bezpečnosti výskumu, prípadného urpenia zvierat a prekročovania prirodzených hraníc. Doposiaľ však existuje len málo zmienok o židovskom pohľade na ľudsko - zvieracie embryonálne kombinácie (Jones, Mackellar, 2012). V roku 2007 bolo vo Veľkej Británii vydané napríklad stanovisko kancelárie vrchného rabína *the Office of the UK Chief Rabbi* Jonathana Sacksa, v ktorom uvádza, že v súčasnosti nemá žiadne námietky proti vytváraniu chimérických alebo hybridných embryí na výskumné účely (Sacks, 2007).

- **pravdepodobnosť vytvorenia konkrétneho chimérického jedinca**

Ak uvažujeme o etickom opodstatnení vytvárania ľudsko - ľudských chimér je významné sa zamyslieť nad otázkou prečo by takýto jedinci vôbec mali vznikať. Do dnešnej doby nie sú ani zďaleka vyčerpané všetky možnosti chimérického výskumu s využitím zvierat, a preto by táto tvorba bola len málo obhájitelná (Bonnicksen, 2009). Je však pravdepodobné, že v budúcnosti

cieľom tvorby ľudsko - ľudských chimér, no i argumentom pre tento výskum bude liečba niektorých vrodených genetických porúch embrya a náchylnosti na isté onkologické ochorenia. Výskum je však do dnešnej doby povolený len na embryu maximálne 14 dňového vývojového štádia a preto problém vzniku ľudských chimér je dnes skôr otázkou vzdialenej budúcnosti (Taupitz, Weschka, 2009). Omnoho pre výskum reálnejšou je tvorba ľudsko - zvieracích a zvieraco - ľudských chimér. Ak by ľudské bunky svojím množstvom výrazne prevýšili počet zvieracích buniek v chimére, takáto zvieraco - ľudská chiméra by so sebou prinášala bioetické dilemy ešte omnoho závažnejšie ako v iných prípadoch. Pre vedcov i spoločnosť ostáva i naďalej nezodpovedanou otázkou či je eticky akceptovateľné transferovať zvieracie bunky do ľudských embryí pre výskumné účely (keďže v tomto smere je viac ako pravdepodobné prevládanie ľudského biologického materiálu v jedincovi) a teda či je morálne a vhodné vytvárať embryá či jedincov s možným potenciálom rozpoznania vlastnej identity. Tieto a iné spomínané otázky sa stali jednými z najdiskutovanejších bioetických problémov 20. a 21. storočia vôbec (Bonnicksen, 2009). Avšak vytvorenie takejto chiméry by vyžadovalo aby vzniknuté embryá boli transferované do maternice (česky dělohy) keďže v súčasnosti neexistuje iná metóda udržania embryí pri živote *in vitro* vo vyššom ako dvojtýždňovom štádiu, čo je ale v súčasnosti neprevediteľné (Jones, Mackellar, 2012).

- enviromentálne obavy

Nové technológie prirodzene prinášajú i enviromentálne obavy. Uvedenie „nových druhov“ do ekosystému môže byť vnímané ako istá forma polúcie spôsobujúca menšie či väčšie zmeny. Tým pádom sa na problematiku z tohto uhla pohľadu môžeme pozeráť odlišne. Namiesto primárnych etických znepokojení nad výskumnými zvieratami, možno uvažovať a nad účinkami experimentov na prirodzené, voľne žijúce druhy. Z tejto perspektívy sa javí takýto výskum, ktorý by neprebíhal len v embryonálnom štádiu, ako potencionálna hrozba, ktorá by musela byť oprávnená len silným odôvodnením (napríklad ak by výsledky takéhoto výskumu nemohli byť dosiahnuté iným, menej kontroverzným spôsobom) aby sa minimalizovalo možné riziko enviromentálneho znečistenia (Jones, Mackellar, 2012).

- **etika samotného výskumu**

Do tejto oblasti patria aspekty ako sloboda výskumu, jeho náklady, riziká vzťahujúce sa i na ďalšie osoby, pravdepodobnosť jeho úspechu, záležitosti ohľadom informovaného súhlasu, a potreba doplnkovej ochrany subjektu či pacienta. Obecné je výskum považovaný za morálne hodnotný a dobrý, keďže pomáha rozširovať hranice ľudského poznania. Každý výskum má právo slobodne prebiehať, avšak jeho hranice sú značne limitované. Podstatným sa zdá práve prínos výskumu pre spoločnosť, jeho etickosť a uplatiteľnosť. V prípade priebehu chimérického výskumu existuje riziko jeho neakceptovania širokou verejnosťou čo by mohlo mať za následok budúce problémy prijatia inovatívnych terapií a spôsobilo negatívny postoj spoločnosti k vede ako takej. Informovaný súhlas týkajúci sa chimérického výskumu by bol zaťažený ešte vyšším štandardom pre zhodnotenie známych i menej predvídateľných rizík. Kladol by sa väčší dôraz na otázky či môže dárca (napríklad pri darovaní vajíčok k vytvoreniu ľudských embryí pre daný výskum) plne pochopiť možné riziká tohto typu výskumu (Taupitz, Weschka, 2009) apod.

2.3.1.2 Navrhnuté etické zásady chimérického poprípadne mikrochimérického výskumu

Vo svetle vyššie uvedených bioetických obáv boli vo viacerých štátoch vydané etické zásady týkajúce sa chimérického výskumu. Tieto odporúčania síce nie sú povinné, no často dochádza k ich postupnej implementácii do legislatívy daných krajín. Sú výsledkom zložitých bioetických diskusií odborníkov z výskumu no i z etickej a ekonomickej oblasti a taktiež zástupcov širokej verejnosti.

Medzinárodná nezávislá spoločnosť pre výskum na kmeňových bunkách *the International Society for Stem Cell Research - ISSCR* združujúca dnes krajiny celého sveta v roku 2006 správu s pokynmi zaobchádzania s hESC bunkami vo výskume *Guidelines for the conduct of human embryonic stem cell research*, v ktorej uviedla radu znepokojení spojených práve s chimérickými

jedincami obsahujúcimi ľudské bunky. ISSCR odporúčala budúcim bioetickým komisiám zamerať sa na:

- stupeň dosiahnutého chimérizmu i mikrochimérizmu v závislosti od množstva chimérizovaných buniek
- typu tkanív a orgánov, ktoré sú chimerizované
- fakt, že pri uvedení hESC buniek do skorších štádiach vývoja embrya zvierat'a je potenciál rozšírených interakcií príliš vysoký
- fakt, že pri uvedení veľkého množstva ľudských pluripotentných buniek do zvieracieho fétu či narodeného jedinca je pravdepodobný vysoký pomer ľudských buniek v jedincovi
- možnosť migrácie implantovaných ľudských buniek v zvieracom tele

Taktiež uviedla, že implantovanie chimérických embryí do ľudských ale i neľudských primátov by nemalo byť povolené v dohľadnej dobe ako i množenie takto narodených chimér (Daley et al., 2007).

Obdobne americká národná akadémia vied *the National Academy of Sciences in the USA* vydala podobnú správu obsahujúcu analogické pokyny ako smernica ISSCR, v ktorej sa mimo iné vyjadrila k problematike tohto výskumu. Táto správa s názvom *Guidelines for Human Embryonic Stem Cell* bola viackrát aktualizovaná a to v rokoch 2007, 2008 a 2010. Národná akadémia tak vyvinula pokyny v mene vedeckej obce a bez účasti vlády a hoci dodržiavanie je dobrovoľné, akadémia vyzvala všetkých súkromných investorov, odborné spoločnosti, časopisy, výskumné inštitúcie a ďalšie subjekty pracujúce na výskume s embryonálnymi kmeňovými bunkami aby dodržiavali vymenované pokynov týkajúce sa etických, ekonomických a ďalších aspektov. Podľa pokynov správy, by výskumné organizácie mali vytvoriť mimo iné ešte výbor pre dohľad nad výskumom embryonálnych kmeňových buniek *Embryonic Stem Cell Research Oversight* - ESCRO. Okrem odborníkov v oblasti biológie a výskumu kmeňových buniek, tieto výbory by mali zahŕňať právnych a etických odborníkov, rovnako ako laických zástupcov. V správe sa ďalej uvádza, že výskum zahrňujúci transfer hESC buniek do zvierat

v ktoromkoľvek zo štádií (embryonálnom, fetálnom i postnatálnom) by mal byť podľa nej povolený iba po schválení nezávislej etickej komisie. Správa ďalej hovorí, že hESC bunky by mali byť zavedené do neľudských cicavcov iba za podmienok, kedy žiadny iný experiment nemôže poskytnúť potrebné informácie. Naprotitomu zavedenie hESC buniek do blastocýst neľudských primátov či naopak, by v dnešnej dobe nemalo byť povolené vôbec. V prípade experimentov, v ktorých existuje možnosť, že by ľudské bunky výrazne prispeli k vývoju mozgu jedinca je potrebné silné vedecké zdôvodnenie tohto výskumu a vzniknutým chiméram, kde by sa hESC bunky stali súčasťou mozgu či zárodočných buniek, by nemalo byť povolené za žiadnych podmienok sa množiť. Avšak ako ďalej správa uvádza, zákaz množenia platí pre všetkých zvieracích jedincov, do ktorých boli akýmkoľvek spôsobom zavedené hESC bunky. Čo sa týka informovaného súhlasu, súhlas darcu musí byť získaný ešte pred využitím blastocýst na vytvorenie kmeňových buniek, a darcovia by mali byť informovaní, že majú právo vziať späť svoj súhlas v ktoromkoľvek okamihu pred odvodením konkrétnych línií kmeňových buniek. Pokyny tiež zdôrazňujú, že žiadne platby by nemali byť dárcom poskytované a to za žiadnych okolností. Prebytočné blastocysty darcov nesmú byť venované na výskum bez predchádzajúceho súhlasu. Darcovia musia byť oboznámení s tým, že s informáciami o nich, vrátane ich mien, môžu pracovať všetci výskumníci pracujúci s danými líniami odvodených kmeňových buniek, no identifikácia identity darcov bude zakódovaná a obtiažne zistiteľná. Pokyny umožňujú len výskum v embryonálnom štádiu. Z toho vyplýva, že ľudské embryá použité pre výskum a akokoľvek upravené, by nemali byť pestované v kultúre dlhšie ako 14 dní, alebo do okamihu, kedy sa začnú vytvárať os tela a centrálny nervový systém tzv. primitívny pruh tela embrya. Odporúčujú taktiež, aby výbor viedol register línií kmeňových buniek. Register by mal obsahovať minimálne doklad o informovanom súhlase, anamnézu darcov, a charakterizáciu akýchkoľvek genetických markerov bunkových línií (National Research Council and Institute of Medicine, 2010).

V roku 2009 vznikol projekt „*Chimbrids*“ započatý na univerzitách v Heidelbergu a Mannheime, ktorý predstavuje európsku i medzinárodnú porovnávaciu štúdiu vedeckých, etických, filozofických a právnych aspektov

výskumu vytvárajúceho prevažne chimérických a hybridných jedincov. Ten okrem iného odporúčal konkrétne opatrenia budúceho či spusteného výskumu ako napríklad:

- aby v prípade chimérických experimentoch zahŕňajúcich transfer ľudských mozgových, či retinálnych buniek do raného štádia neľudského embrya bolo množstvo týchto buniek čo najmenšie, minimálne, tak aby sa výskumom dosiahli požadované výsledky a to s cieľom prekonať možnosť, že výsledná chiméra by bola považovaná za schopnú vyvinúť schopnosti a vlastnosti spojené s ľudskou dôstojnosťou
- host'ovský druh zvierat'a zvolený pre rozvoj chimérických blastocýst vzniknutých pridaním ľudského biologického materiálu by nemal byť morfológicky alebo funkčne blízky ľuďom, aby sa zabránilo hoc len malému riziku prieniku ľudských buniek do neurálneho systému host'ovského organizmu
- pre vývoj raného či neskoršieho štádia chimér by mali byť použité disociované ľudské kmeňové bunky radšej než plne vyvinuté tkanivové transplantáty (napríklad časti ľudského mozgu apod.) s cieľom vyhnúť sa vyššie uvedenému rozvoju ľudských charakteristík
- ďalej by štát, v ktorom by mal prebiehať takýto výskum mal započat' verejnú diskusiu a viesť verejné konzultácie a to aj na medzinárodnej úrovni týkajúce sa zložitých etických a spoločenských otázok, taktiež skúmať svoje existujúce právne predpisy a vyhodnotiť primeranosť súčasných právnych predpisov
- každá krajina s touto intenciou výskumu by mala mať zriadenú príslušnú medzidisciplinárnu skupinu odborníkov posudzujúcu etické i legálne aspekty ku konkrétnemu výskumu (Taupitz, Weschka, 2009).

2.3.1.3 Legislatíva krajín týkajúca sa chimérického či mikrochimérického výskumu

➤ Európska únia

Vo Veľkej Británii je výskum využívajúci ľudsko - zvieracie kombinácie povolený len po udelení licencie štátom. K chimérickému výskumu je viac či menej permissívny rozdiel od prevažnej väčšiny iných štátov. Regulácia tohto výskumu spadá do legislatívy ohľadom výskumu so zvieracími jedincami, predovšetkým zákonom *the Animals Act - Scientific procedures* - ASPA, ktorý pôvodne vznikol z roku 1986, no bol novelizovaný v roku 2013, tak do legislatívy týkajúcej sa ľudí, najmä zákonom o ľudskej fertilizácii a embryológii *the Human Fertilisation and Embryology Act* - HFEA. Pochádza z roku 1990 a neskôr bol novelizovaný v 2008 roku. Pôvodný HFEA zákon mimo iné zakazoval napríklad umiestnenie iného než ľudského embrya do ženskej maternice (česky dělohy) a takisto umiestnenie ľudských embryí do zvierat'a. No jeho obsah nebol komplexný a nepokrýval pole rýchlo sa rozvíjajúceho chimérického výskumu. Preto ministerstvo zdravotníctva započalo v roku 2006 jeho revíziu s následnou novelizáciou. V novele došlo k zmene definície ľudského embrya, presnejšie k jej rozšíreniu a tak v pôvodnom zákone uvádzané „medzidruhové“ embryá boli nahradené termínom „zmiešané ľudské embryá“ (anglicky human admixed embryos), čím došlo k vymedzeniu plne ľudských embryí. Zmiešané ľudské embryá môžu byť podľa zákona legálne produkované (za určitých podmienok a len po udelení licencie), avšak ako zákon vyslovene zakazuje, nemôžu byť ďalej implantované do tela ženy či do zvierat'a. Štát nemôže udeliť licenciu výskumu, ktorý by prebiehal na inej než na embryonálnej úrovni do 14 - dňového štádia či do vývinu primitívneho neurálneho pruhu. Okrem toho je nelegálne vytvárať kombinované embryá - hybridy zmiešaním ľudských a zvieracích gamét. Avšak zákon nepokrýva napríklad zvieracie embryá, ktoré by boli upravené pridaním ľudskej DNA či buniek a súvisí tak iba s kombinovanými embryami, kde sú predominantné ľudské bunky. Ľudsko - zvieracie embryá preto nespadajú pod HFEA zákon. V prípade ak by vedci zamýšľali vytvoriť embryá, v ktorých by hoc len na krátku dobu a v ktoromkoľvek štádiu, prevládali ľudské bunky. Je potrebné aby takýto výskum v každom prípade získal licenciu. U embryí s prevahou zvieracích

buniek, no kde by časti ako mozog boli ľudskými, takéto embryo by rovnako patrilo pod tento zákon. Zákon hovorí o okamžitom pozastavení pri objavení jeho nečakaných výstupov a potrebe ďalšej autorizácie štátom. ASPA zákon, platný v Anglicku, Škótsku tak i vo Walese a Severnom Írsku implementuje požiadavky Európskej smernice 86/609/EEC a týka sa definície ochrany zvierat a regulovaných postupov zaobchádzania s nimi, nariadení vyhnutia sa ich utrpenia, bolesti, tiesni či trvalého poškodenia. Zákon do malej miery reguluje modifikácie zvieracích embryí ľudským materiálom a v tomto prípade udelenie licencie závisí na povahe konkrétneho zvieracieho druhu a rozsahu, v ktorom sú tieto modifikácie badateľné. Udelenie licencie ale prebieha pod znateľne menej prísnymi požiadavkami. Embryonálna ľudsko - zvieracia chiméra, ktorá je zničená pred svojím gestačným obdobím by však nespadala pod ASPA zákon a jediné obmedzenia by sa tak týkali práce s ľudskými embryonálnymi bunkami, čo pokrýva HFEA zákon. Za posledných dvadsať rokov sa vo Veľkej Británii nestal prípad odmietnutia udelenia licencií vyžadovanej daným výskumom. Všetkým boli doposiaľ udelené licencie hneď po vyžiadaní, až na dve výnimky z toho jednej po odvolaní sa na súde (Jones, Mackellar, 2012).

Vo Francúzsku bol naposledy prijatý zákon pojednávajúci o téme ľudsko - neľudských kombinácií a teda i o tvorbe chimér v roku 2011. Bolo to čiastočne aj následkom diskusií, ktoré sa odohrali pri príprave podobnej legislatívy vo Veľkej Británii v roku 2008 (novelizácia HFEA zákona) a následných stále napredujúcich vedeckých poznatkoch. V tomto zákone číslo: 2011 - 814 vzťahujúcemu sa k bioetickým problémom, ktorý tým modifikoval stávajúce právne predpisy upravujúce ochranu verejného zdravia vyslovene stojí, že je zakázané in vitro vytvorenie embrya procesom klonovania a taktiež tvorba transgénnych či chimérických ľudských embryí. V dohľadnej dobe tak francúzski zákonodarcia nezvažujú uvoľnenie zákona, ktorý by bol k problematike permissívny (Jones, Mackellar, 2012).

V Španielsku by pravdepodobne problematiku chimérického výskumu primárne ošetrovali dva právne predpisy a to zákon o technikách asistovanej reprodukcie *Técnicas de Reproducción Asistida Ley* z roku 2006 a zákon o biomedicínskom výskume *La investigación biomédica Ley* z 2007. V prvom z nich sa vyslovene uvádza, že vytváranie medzidruhových hybridov s využitím ľudského genetického materiálu je v krajine považované za zločin (s výnimkou

výskumu testujúceho kvalitu mužských spermií cez oplodnenie zvieracích vajíčok). Je však prekvapujúce, že zákon vôbec nepojednáva o chimérach a preto by v budúcnosti malo dôjsť k jeho novelizácii. Naprotitomu zákon o biomedicínskom výskume v článku 74C spomína ako hybridov tak chiméry. Čo sa chimér týka, predpis nezakazuje použitie ľudskej DNA k produkcii chimérických embryí, ani nepodrobuje takýto výskum značne obmedzujúcim podmienkam (Taupitz, Weschka, 2009).

V roku 2001 Estónsko prijalo časť predpisu upravujúcu predošlý trestný zákonník a to §130 zakazujúci tvorbu akýchkoľvek hybridných embryí. Táto časť mimo iné obsahuje i definíciu hybridného embrya a v tomto prípade je terminológia predpisu pomerne nejednotná, keďže pod tento pojem zaradzuje i chimérických jedincov. Narozdiel od iných legislatív (napr. v Argentíne kde nie je presne vymedzené čo pod termín hybrid spadá, čím sa vytvára priestor tzv. legislatívnych škár ako sme uvádzali v predchádzajúcej kapitole) však obsahuje súpis subjektov, ktoré pod termín vyslovene patria a vzťahuje sa tak i k chimérickým embryám (Jones, Mackellar, 2012).

Situácia v Českej republike je pomerne nejasná. V súčasnosti v krajine neexistuje zákon, ktorý by sa priamo dotýkal tejto témy a reguloval tak vytváranie chimér na výskumnom poli, či trestný zákon vymedzujúci trestnú zodpovednosť súvisiacu s ich tvorbou (Taupitz, Weschka, 2009). Zákon *o výskumu na ľudských embryonálnych kmeňových bunkách* síce presne definuje ľudské embryo a dokonca je v ňom uvedené, že počas výskumu na ľudských embryonálnych kmeňových bunkách nesmie dôjsť k manipuláciám s týmito bunkami, ktoré by viedli k vytvoreniu nového jedinca, no to sa týka, ako predpis uvádza reprodukčného klonovania a nedá sa to preto bezprostredne aplikovať na chimérické embryá (Zákon č. 227/2006 Sb., v platnom znení). Z toho vyplýva, že zmiešavanie ľudských embryí so zvieracím genetickým materiálom nie je na embryonálnej úrovni nijak zakázané. Naprotitomu implantácia chimérických embryí vzniknutých pri takomto výskume do ženského tela je striktne zakázaná a to najprv zákonom *o péči o zdraví ľudu*, ktorý bol však v roku 2012 zrušený a nahradený zákonom *o špecifických zdravotných službách*, konkrétne v časti pojednávajúcej o asistovanej

reprodukcii. V ňom je jasne definované, že do ženského tela môžu byť implantované len ľudské embryo a to za účelom asistovanej reprodukcie (Zákon č. 373/2011 Sb., v platnom znení). Výskum využívajúci či inak upravujúci ľudské embryonálne kmeňové bunky v krajine závisí od povolenia, ktoré na žiadosť vydáva *Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky* podľa odporúčania *Bioetickej komisie pro výzkum, vývoj a inovace*, ktorá bola ustanovená skrz prijatie spomínaného zákona č.227/2006 Sb. Výskum na líniiach hESC buniek pred koncom roka 2008 môže, ako uvádza zákon prebiehať i naďalej a to bez povolenia ministerstva (Zákon č. 227/2006 Sb., v platnom znení). Keďže by sa chimérický výskum svojím obsahom dotýkal i práv zvierat, užívanie zvieracích jedincov vo výskume ošetruje zákon č.246/1992 Sb., *na ochranu zvířat proti týrání*. Pod podmienkami tohto zákona sa zdá byť výskum vhodne odôvodnený, pretože by prebiehal vo veľkej pravdepodobnosti len na embryonálnej úrovni (ako u ostatných krajín) a jeho prínosom by bol príspevok k zlepšeniu vedeckých poznatkov s možným budúcim využitím pre rozšírenie zdravotnej starostlivosti. Na základe stávajúcich právnych predpisov by teda experiment v štáte mal byť povolený, podliehajúc ale rôznym štátnym i miestnym povoleniam (Taupitz, Weschka, 2009).

Nemecko prijalo právnu normu upravujúcu tvorbu medzidruhových kombinovaných embryí už v roku 1990 a to zákonom o ochrane embrya *Das Embryonenschutzgesetz - EschG*. V sekcii pojednávajúcej o vytváraní chimér a hybridov predpis stanovuje sankciu 5 ročného odňatia slobody alebo udelenia pokuty pri porušení zákazu kombinovať ľudské i zvieracie embryá s bunkami odlišnej genetickej informácie, vytvárať embryá schopné vývoja spojením ľudských zárodočných a zvieracích buniek, umiestňovať takto vytvorené embryá do ľudského i zvieracieho tela a umiestňovať ľudské embryá do zvieracieho tela a naopak (Jones, Mackellar, 2012).

➤ Švajčiarsko

V roku 2005 sa uviedol vo Švajčiarsku v platnosť zákon *Loi fédérale relative à la recherche sur les cellules souches embryonnaires* o výskume na embryonálnych kmeňových bunkách (EuroStemCell, 2012). Predpis explicitne

zakazuje nielen tvorbu klonovaných, chimérických a hybridných embryí, no dokonca i ich využitie pri produkcii kmeňových buniek (Jones, Mackellar, 2012).

➤ Kanada

Vďaka dôsledne vymedzenej terminológii v kanadskej legislatíve ohľadom tejto oblasti výskumu, došlo k spresneniu názvoslovia aj v iných štátoch, čo pomohlo všeobecne formovať ich právne predpisy. V zákone z roku 2004 o asistovanej ľudskej reprodukcii *Assisted Human Reproduction Act* - *AHRA* na prvom mieste stojí klarifikácia definícií ako ľudského embrya a ďalších embryonálnych foriem. Kanadská legislatíva ďalej pokračuje vo vymenúvaní zakázaných postupov a uvádza napríklad, že vytvorenie chiméry či hybrida a ich transplantovanie do ľudského i neľudského jedinca je v krajine ilegálne. Pozoruhodnou zvláštnosťou v predpise je nahradenie pojmu zvierací jedinec názvom neľudský jedinec (Jones, Mackellar, 2012). Výskum zahrňujúci implantovanie ľudských kmeňových buniek do neľudských embryí, plodov či dospelých tvorov nie je vyslovene zákonom zakázaný. Zákon pokrýva ľudsko - ľudské a zvieraco - ľudské chiméry, keďže tieto embryá sú predpisom definované ako „ľudské“ embryo, no priamo sa nevzťahuje na ľudsko - zvieracích jedincov. No i v tomto prípade je problematika predpisom obsiahnutá ako zákaz pretransplantačných pokusov v súvislosti so zákazom tvorby chimér ako takých a ich umiestnenia do žijúceho tvora (Taupitz, Weschka, 2009).

Združenie kanadských inštitútov zdravotníckeho výskumu *the Canadian Institutes of Health Research* - *CIHR* vydalo v roku 2010 prísnejšiu a dôkladnejšiu smernicu *CIHR 2010*, § 8.2 týkajúcu sa všetkých kanadských výskumníkov a výskumných inštitúcií financovaných združením *CIHR* a iným i federálnymi finančnými agentúrami, ktorá zakazuje výskum vytvárajúci konkrétne embryá a to:

- výskum, v ktorom sú ľudské či neľudské pluripotentné bunky kombinované s ľudským embryom (zahŕňa týmpádom ako ľudsko - ľudské a zvieraco - ľudské chiméry tak potencionálne i ľudsko - zvieracie chiméry)

- CIHR ďalej zakazuje výskum, kde dochádza implantovaniu ľudských, či neľudských pluripotentných buniek do ľudského plodu (zahŕňa najmä ľudsko - ľudské a zvieraco - ľudské chiméry)
- výskum, kde su ľudské pluripotentné bunky spájané s neľudským embryom (predovšetkým ľudsko - zvieracie chiméry)
- výskum, v ktorom sú ľudské pluripotentné bunky implantované do neľudského plodu (najmä ľudsko - zvieracie chiméry) (Jones, Mackellar, 2012).

➤ **Japonsko**

V tejto krajine bol v roku 2000 prijatý právny predpis týkajúci sa ľudského klonovania a iných podobných metód (anglicky the Law Concerning Regulation to Human Cloning Techniques and Other Similar Techniques), ktorý predstavuje tzv. japonský model ohľadom tohto zamerania sa výskumu. Japonsko narozdiel od prevažnej väčšiny krajín zakazuje iba transfer kombinovaného embrya do ženského či zvieracieho tela. Tým necháva otvorenou možnosť vytvorenia hybridných a chimérických embryí *in vitro* za výskumným účelom. Vláda ale vo svetle nových skutočností môže v krajine kedykoľvek zaviesť tzv. dočasné moratórium obmedzujúce dané procedúry. Zákaz umiestnenia vytvorených embryí do žijúceho tvora tak povoľuje výskum len na embryonálnej, poprípadе fetálnej úrovni a zakazuje narodenie chimérických jedincov (Jones, Mackellar, 2012). V Japonsku sa taktiež v roku 2006 podarilo vytvorenie indukovaných pluripotentných kmeňových buniek (anglicky induced pluripotent stem cells - IPS) vytvorených z odobratých dospelých somatických buniek a ich následné spojenie s embryami, čo viedlo k vzniku novej technológie tvorby i chimérických jedincov. Za tento objav získal v roku 2012 japonský profesor Kyotskej univerzity Shinya Yamanaka Nobelovú cenu za fyziológiu a medicínu (The Nobel Foundation, 2012). Išlo teda o umelé vytvorenie kmeňových buniek zo somatických a na tento výskumný pokrok reagovalo v roku 2008 japonské ministerstvo tým, že poslalo všetkým univerzitám a výskumným centráм menovite zákaz o:

- implantácii embrya vytvoreného z IPS buniek do ľudských alebo zvieracích tiel

- vytváraní jedinca akýmkoľvek spôsobom z IPS buniek
- zavádzaní IPS buniek do embrya alebo plodu
- a produkciu zárodočných buniek z IPS buniek (Cyranoski, 2008).

➤ **Južná Kórea**

Ešte na prelome tisícročí bola legislatíva Južnej Kórey nastavená tak, že tolerovala skoro všetky inovatívne biotechnologické postupy. Táto situácia však vyústila mimo iné napríklad v získavanie ženských vajíčok za finančnú odmenu, snahu a vytvorenie ľudských klonovaných embryí a pod., čo zdvihlo v krajine radu etických znepokojení. Krajina preto prijala v roku 2005 *Zákon o bioetike a biologickej bezpečnosti* (anglicky *Bioethics and Biosafety Act*). Ten zakazoval implantácie zvieracieho embrya do ľudského tela a naopak, oplodnenie ľudského oocyta zvieracou spermou a naopak, proces klonovania ľudských embryí, spájanie ľudského a zvieracieho embrya (teda tvorbu zvieraco - ľudských a ľudsko - zvieracích chimér), či spájanie ľudského embrya s iným embryom nesúcim odlišnú genetickú výbavu (teda tvorbu ľudsko - ľudských chimér). Neskôr v roku 2008 Kórea prijala ďalšie opatrenia, ktorými zakázala implantovanie ľudských somatických bunkových jadier do neľudského vajíčka a teda metódy somatického nukleárneho transferu (anglicky somatic cell nuclear transfer - SCNT). Tento postup bol taktiež nazvaný ako medzidruhové klonovanie (Jones, Mackellar, 2012).

➤ **Austrália**

V roku 2002 prijala krajina predpis zakazujúci ľudské klonovanie za účelom reprodukcie *Prohibition of Human Cloning for Reproduction Act*, v ktorom taktiež zadefinovala pojem chimérické embryo. Neskôr v roku 2006 došlo k jeho pozmeneniu na zákon zakazujúci ľudské klonovanie za účelom reprodukcie a regulujúci výskum na ľudských embryách *Prohibition of Human Cloning for Reproduction Act and the Regulation of Human Embryo Research Amendment Act*. V ňom vláda zakázala umiestnenie ľudského embryonálneho klonu do živého tvora, umiestnenie ľudského embrya do zvierat'a a naopak, tvorbu kombinovaných chimérických embryí a hybridných embryí bez licencie a ich vývoj nad 14 dňové štádium vylučujúc ale obdobie, kedy bol vývoj umelo pozastavený. Licencia povoľujúca tvorbu hybridných embryí ale môže byť

udelená len pre výskum testujúci kvalitu mužských spermií cez oplodnenie zvieracích vajčiek no nepovoľuje sa napríklad umiestnenie ľudských bunkových jadier do zvieracích vajčiek, teda medzidruhovú klonovanie (Jones, Mackellar, 2012).

➤ USA

Až do roku 2009 nebolo zákonodárstvo v Amerike nastavené tak aby vyslovene nepovoľovalo niektoré z napredujúcich výskumných biomedicínskych procedúr a postupov týkajúcich sa hESC buniek. V tomto roku však Barack Obama vydal nariadenie prezidenta číslo 13505 o odstránení bariér k vedeckému výskumu na ľudských kmeňových bunkách *Removing Barriers to Responsible Scientific Research Involving Human Stem Cells*. Vytváranie akýchkoľvek embryí za výskumným účelom, teda i chimér, či ich následné zničenie sa týmto nariadením označilo za nevhodné pre federálne financovanie. Výskum kde sú ľudské pluripotentné kmeňové bunky umiestnené do blastocýst neľudského primáta, či ktorý zahŕňa ich chov s rizikom následného rozmnožovania, je nariadením považovaný za nevhodný pre federálne financovanie (Presidential Candidates Organization, s.a.) to ale samo o sebe tento výskum nezakazuje.

Ešte pred prijatím prezidentského nariadenia boli v krajine vydané rôzne návrhy zákonov dotýkajúce sa medzidruhového výskumu. Návrh zákona zakazujúceho ľudské chiméry *US Draft Human Chimera Prohibition Act* z 2005 neprešiel štádiom hlasovania vládneho výboru. Ten, i keď definujúci chiméry a chimérické embryá, neobsahoval ešte presné vymedzenie pojmov hybrid a chiméra a tak pravdepodobne všeobecne zakazoval tvorbu kombinovaných embryí obsahujúcich ľudský genetický materiál. Návrhy nepovolenia vytvárania hybridov *US Draft Human-Animal Hybrid Prohibition Act* z rokov 2007, 2008 a 2009 taktiež nevošli do platnosti. Obsahovali vymedzenie termínu hybrid no rovnako nevymedzovali jemu podobné pojmy ani chimérických jedincov. V súčasnosti v USA nie je platný žiaden zákon zakazujúci alebo komplexne regulujúci tvorbu hybridov či chimér na federálnej úrovni, no čo sa týka štátnej úrovni, v štáte Louisiana prešiel v roku 2009 návrh *Louisiana Senate Bill No. 115* podobný svojím obsahom návrhu *US Draft Human-Animal Hybrid Prohibition*

Act z roku 2007. Pojem hybrid tu však nepresne označuje medzidruhového jedinca a teda i chiméru. I napriek tomu, že zákon neurčito vymedzuje aký výskum je vlastne nelegálny, predstavuje akýsi model pre národnú legislatívu krajiny čo by USA zaradilo medzi krajiny ako Nemecko, Estónsko, Kanadu, Austráliu či Južnú Kóreu radšej než Japonsko (Jones, Mackellar, 2012). Relevantnými sú ale predpisy regulujúce výskum s ľudskými embryami. Federálny zákon zakazuje poskytovanie federálnych fondov k tvorbe ľudských embryí za výskumným účelom alebo pre výskum, v ktorom by boli zničené, poškodené, či inak zlikvidované. Ak by mal byť takýto výskum, kde boli chiméry vytvárané zavedením zvieracej DNA do ľudských embryí či naopak financovaný štátne a to agentúrou pre lekárske výskum - *the National Institutes of Health* musel by spĺňať ňou určené formálne podmienky ako napríklad vytvorenie výboru biologickej bezpečnosti *Institutional Biosafety Committee*. Tieto obmedzenia ale nemajú priamy dopad na privátne financované výskumy. A i keď 9 štátov USA zakázalo výskum na embryách celkovo, a jeden štát vymedzil výskum do 14 dňového štádia vývoja, vo zvyšných štátoch nie je privátny výskum limitovaný. Jednou z obecných podmienok by ale bolo získanie informovaného súhlasu od darcov. Povolenie a priebeh chimérického výskumu v USA preto závisia od skutočnosti či ide o privátne alebo štátne financovaný výskum, a od možných, štátom nepodporovaných a zakázaných komerčných intencií (Taupitz, Weschka, 2009).

2.3.2 Bioetika xenotransplantácií

V súvislosti s nedostatkom ľudských tkanív a orgánov potrebných pre transplantácie sa pozornosť medicíny čoraz viac obracia k možnosti xenotransplantácií. Zásadným atribútom pre rozvoj xenotransplantácii je predovšetkým prevažujúci prínos pre ľudskú spoločnosť nad jeho rizikom. I napriek obrovskému potenciálu pomáhať ľudstvu, táto idea prináša so sebou unikátne bioetické dilemy. V minulosti bolo tvrdené, že xenotransplantácie sú neprirodzené a preto neetické (Webster, 1998). Tento argument ale nemal relevantný podklad keďže vedecké inovácie a zásahy v medicíne sú dnes skôr rutinou než raritou.

Pri bioetickom hodnotení xenotransplantácií ale i ostatných problematík sa zohľadňuje verejná mienka spoločnosti na konkrétnu tému pričom sa taktiež pozerá na základné etické princípy spísané Beuchampom a Childressom z roku 1994. Z etických princípov najviac diskutovanými sú princíp nonmaleficiencie a beneficiencie, no najmä ich vzájomný pomer (Ellison, 2006).

Do dnešnej doby je veľmi ťažké predvídať reakcie verejnosti na xenotransplantácie, pretože ich prijateľnosť sa môže medzi kultúrami či spoločnosťami viac či menej líšiť, a zároveň sa postupne meniť v čase. Z politického hľadiska ide o úzky vzťah medzi samotnou procedúrou, jej formou a obsahom, štátnou reguláciou a nariadeniami vlád, názorom vedcov a prevládajúcim náboženským presvedčením ľudu. Vyspelé a rozvojové krajiny majú však približne rovnaký názor na túto tematiku a väčšina z nich je ešte stále v procese zaujatia konkrétného postoja voči xenotransplantáciám (Wagner, Perez, 2010). V našej práci sme uviedli príklady niektorých z nich.

2.3.2.1 Základné bioetické aspekty xenotransplantácií

Základnými bioetickými aspektami xenotransplantácií sú:

- bezpečnosť xenotransplantácií a potencionálny risk prenosu endogénnych vírusov na človeka či vznik hyperakútnej rejekcie zvieracieho orgánu
- verejná mienka spoločnosti
- informovaný súhlas a diskretnosť
- teologické a antropologické hľadisko
- vytváranie ľudsko - zvieracích chimér pre použitie u xenotransplantácií
- zaobchádzanie so zvieratami, dobré životné podmienky zvierat a ochrana práv zvierat
- prerozdelenie zdravotnej starostlivosti
- ekonomická stránka xenotransplantácií
- štátna a medzinárodná regulácia xenotransplantácií (Dickinson, 2002).

V súvislosti s existenciou zvieracích endogénnych vírusov prebehla celá rada štúdií sledujúca ich potenciál prenosu na človeka a tým narušenia princípu nonmaleficiencie xenotransplantácií. V našej práci uvádzame príklad štúdie zameranej na prasacie vírusy keďže ide o jedných z najvhodnejších kandidátov xenotransplantácií. Doposiaľ boli u prasiat opísané tri subtypy prasacích endogénnych retrovírusov - PERV a to subtypy A, B, C, pričom sa zistilo, že ako provírusy sú súčasťou každého genómu prasiat (A a B u všetkých, C u niektorých jedincov) s možným prenosom na potomkov a schopnosťou niektorých infikovať ľudské bunky prinášajúc tak značné riziko xenotransplantácii. Virus vzniknutý rekombináciou A a C subtypu, rekombinantný PERV - A a PERV - C so sebou nesie najväčšie riziko, keďže je schopný sa *de novo* integrovať do somatických buniek prasiat a bola dokázana jeho *in vitro* transmisia do ľudských buniek. Elimináciou tohto rizika je využitie prasiat, ktoré nenesú PERV - C vírus čím je potlačená možnosť rekombinácie spomínaných subtypov (Denner, 2008) alebo knockout PERV expresie u buniek

transgénnych prasiat s využitím siRNA (small interference RNA) kedy vznikla nová línia prasiat s negatívnym alebo veľmi nízkym titrom PERV-C (Ramsoondar et al., 2009). Ďalšími sledovými vírusmi sú napríklad prasací cytomegalovírus (PCMV), lymfotropický herpesvírus (PLHV1-3), vírus hepatitídy E (HEV) (Scobie, Takeuchi, 2009). Doposiaľ u žiadnych experimentálnych ani klinických xenotransplantácií využívajúcich prasacie bunky či orgány nebola prekážana transmisia PERV vírusu (Kaulitz et al., 2011a). Boli ale nastolené opatrenia ako spomínané vytvorenie špeciálnej línie prasiat neexprimujúcej PERV vírus, výskum zaoberajúci sa vytvorením efektívnej vakcíny (Kaulitz et al., 2011b), antiretrovirotik (Denner, Tönjes, 2012) apod. V spojitosti s možným prenosom endogénnych zvieracích vírusov vydali U.S Public Health Service a WHO radu smerníc a regulačných požiadavok týkajúcich sa klinických xenotransplantačných štúdií a dohľadu nad možnými xenogénnymi infekciami:

- v roku 1998 vydala WHO poučenie ohľadom xenotransplantácií, *Xenotransplantation - guidance on infectious disease prevention and management*
- v roku 2001 WHO prijala obdobný dokument - *Guidance on xenogeneic infection and disease surveillance and response*
- v roku 2001 vydala WHO v spolupráci s Organizácia pre hospodársku spoluprácu a rozvoj (anglicky Organisation for Economic Co-operation and Development - OECD), súhrnnú správu *Consultation on xenotransplantation surveillance*
- rok 2001 U.S Public Health Service vydal smernicu - *Guideline on infectious disease issues in xenotransplantation* (McLean, Williamson, 2005)
- v rok 2008 vydala WHO v Číne regulačný dokument - *Changsha Communiqué* (World Health Organization, ©2015a)

Tieto dokumenty sú formou medzinárodného dohľadu nad infekčnými ochoreniami v súvislosti so xenotransplantáciami, umožňujú rýchlu kooperáciu všetkých zúčastnených krajín, rýchle ohlasovanie potencióálnych infekcií a tým hodnotenie nonmaleficiencie xenotransplantácií a predovšetkým ochranu verejného zdravia.

Dokonca WHO zriadila medzinárodné fórum zaoberajúce sa problémami xenotransplantácií z medzinárodného hľadiska *Electronic Discussion Group on International Xenotransplantation Policy Considerations* pričom hlavnou úlohou tohto fóra je sprostredkovanie možnosti účastníť sa na národnej i medzinárodnej výmene informácií a riešenia problémov s využitím kritérií verejnej politiky xenotransplantácií pre všetkých zainteresovaných ľudí (Organisation for Economic Co-operation and Development, ©2015a).

Ďalším významným momentom je zvýšená možnosť hyperakútnej rejekcie zvieracieho orgánu (rejekcie, ktorá nasleduje v rade minút po transplantácii) či akútnej vaskulárnej rejekcii (spôsobenej cytotoxickými T - lymfocytami) ako dôsledok antigénovej rozdielnosti recipienta a donora. Doposiaľ najznámejší prasací antigén zodpovedný za rejekcie orgánov je sacharid exprimovaný na bunkovom povrchu mnohých zvierat vrátane prasiat, α -Gal. Dôležitým mýlnikom vo výskume preto bolo vytvorenie prasiat s nefunkčným (knockoutovaným) génom pre α -1,3-Galaktozyltransferázu syntetizujúcu α -1,3-galaktózový epitop hlavného prasacieho antigénu viažuci protiprasacie xeno-protilátky prirodzene sa nachádzajúce v ľudskom tele (Milland et al., 2005). Aby sa zabránilo aktivácii hlavného histokompatibilného systému (anglicky major histocompatibility complex - MHC), vedci vytvárajú geneticky modifikované, chimérické zvieratá s včlenenými ľudskými génmi. Jednými z popredných svetových producentov prasiat s upraveným genómom je napríklad britská biotechnologická spoločnosť Imutan (Mae-Wan Ho, 2000), ktorú nakoniec odkúpila farmaceutická spoločnosť Sandoz (neskôr Novartis) či americká korporácia Nextran Inc. (WGBH Educational Foundation, ©1995-2014). Známe sú transplantačný program *Sheep to humans organ transplant project* University of Nevada v Reno, ktorému sa vďaka pridaniu ľudských EC buniek do ovčích embryí úspešne podarilo vytvoriť ovce majúce napríklad pečeň pozostávajúcu až z 10% až 40% z ľudských buniek či program *Pig to humans organ transplant project* Mayo Clinic univerzity v Minnesote zameranú taktiež na štúdium rizikaku prenosu prasačích ochorení na človeka (Organic Consumers Association, 2005). V súčasnosti sa dokonca vedcom poradilo obísť hyperakútne odmietnutie orgánov manipuláciou expresie inhibičných proteínov komplementu endotelialného systému zvieratá a knockoutovaním spomínaného génu pre α -1,3-Galaktozyltransferázu i keď problém akútnej cievnej rejekcie ostáva stále

otvorený. Všetky postupy, ktoré doposiaľ vedci vyvinuli majú eliminovať riziká spojené s transplantáciou zvieracích orgánov aby tak bol zachovaný základný a veľmi významný atribút bioetického hodnotenia a to, že daný proces má byť pre človeka neškodný (ide o princíp nonmaleficiencie) a mal by prevažovať úžitok danej terapie (Israeli et al., s.a.)

Keďže prehľad o verejnom názore ľudí na danú tému je dôležitým aspektom, ktorý bioetika posudzuje, prebehlo mnoho štúdií zaoberajúcich sa týmto predmetom. V roku 2005 štúdia s diabetickými pacientmi pochádzajúcich z Veľkej Británie (316 osôb) a Austrálie (195) uviedla, že až 68% anglických a 85% austrálskych pacientov bolo ochotných akceptovať transplantát prasacieho pôvodu, s obdobnými výsledkami pri pôvode z primáta (67% a 82%). Diabetici preukázali doteraz najväčšiu ochotu voči zvieracím transplantáciám oproti ostatným (Ellison, 2006). Predmetom výskumu, na ktorom sa podieľal Enrico Rubaltelli a iní z roku 2008, bola citová reakcia pacientov na xenotransplantát pečene a jej premenné v závislosti na dostupnosti ľudských a rôznych zvieracích orgánov, pričom sa zistila nepriama úmera medzi dostupnosťou ľudských orgánov a ochotou prijať xenotransplantát. Pri porovnávaní orgánov z rôznych živočíchov, prasacie orgány boli pozitívnejšie vnímané ako orgány psa, ovce či primáta. Štúdia poukázala na rozhodujúci vplyv citového kontextu voči darcovi, inými slovami zvýšená ochota akceptovať prasacie orgány oproti ostatným orgánom zvieracieho pôvodu súvisela so svolením najmenej odpudivej, najpriateľnejšej možnosti (Rubaltelli et al., 2008). Výsledky štúdie V. Stadlbauera, P. Stieglera a kolegov z roku 2011 majúca za subjekt pacientov na čakacej listine a pacientov, ktorí predtým podstúpili transplantáciu ľudských orgánov hovorili o 65 percentách pacientov s pozitívnym prístupom k xenotransplantátom bez ohľadu na ich pohlavie a úroveň vzdelanosti. Väčšina z nich bola ochotná akceptovať skôr transplantáciu buniek a tkanív, než celých orgánov. Súhlasne so štúdiou z roku 2005 uvádza, že transplantácia prasačích Langherhansových ostrovčekov pri liečbe diabetu je pacientmi obecnne veľmi dobre vnímaná, dokonca lepšie ako u iných ochorení (Stadlbauer et al., 2011). Nasledujúce štúdie zaoberajúce sa postojom spoločnosti voči xenotransplantácii naznačujú postupne zvyšujúcu sa mieru akceptovateľnosti zvieracích orgánov v budúcnosti, dosahujúc napríklad

až 76% ochotu podstúpiť transplantáciu obličiek (česky ledvin) či pečene (česky jater) pri jej efektívnosti (Matrínez Alarcón et al., 2011).

Čo sa týka informovaného súhlasu a diskrétnosti xenotransplantácii existuje verejný konsenzus, že príjemcovia zvieracieho transplantátu by museli súhlasiť s celoživotnými pravidlami, ktoré by však výrazne ovplyvnili ich slobodu a to, potenciálny zákaz cestovania mimo územia svojho štátu, identifikácia všetkých sexuálnych partnerov danými autoritami a celoživotné monitorovanie príslušnými štátnymi a zdravotnými orgánmi. Taktiež je navrhovaná nová forma informovaného súhlasu pre týchto pacientov, kde by tento súhlas mal byť podpísaný nie len recipientom ale aj príslušníkmi jeho najbližšej rodiny. Tým pádom by došlo aj k modifikácii sľubu mlčanlivosti medzi pacientom a doktorom, pretože ten by mal povinnosť informovať taktiež rodinných príslušníkov ohľadom výsledkov liečby poprípade klinického hodnotenia. Dané skutočnosti so sebou prinášajú nové etické, či právne problémy. Bude musieť pacient deklarovat' svoj zdravotný stav pri vstupe do iného štátu? Bude táto skutočnosť zaznamenaná v jeho cestovnom pase? Bude vytvorená medzinárodná regulačná infraštruktúra zhromažďujúca informácie o všetkých pacientoch so zvieracím xenotransplantátom (Dickinson, 2002)?

Dôležitým aspektom je taktiež teologické a antropologické stanovisko k danej téme. Náboženské presvedčenie sa taktiež veľmi významne podieľa na utváraní verejnej mienky ľudí v celosvetovom merítku. V roku 2001 Pápežská akadémia pre život (anglicky Pontifical academy for life) zvolala medzinárodné stretnutie pričom identifikovala viacero etických, teologických a filozofických otázok týkajúcich sa xenotransplantácie uverejnené v správe pracovnej skupiny *Prospects for xenotransplantation*. Problémy zhrnula do troch teologicky zásadných bodov a to:

- prijateľnosť ľudského zasahovania do prirodzeného rádu stvorenia
- etické aspekty využívania zvierat pre blahobyt a prežitie ľudí
- možný objektívny či subjektívny dopad xenotransplantácií na samotnú identitu ľudského príjemcu (Dickinson, 2002).

Podľa kresťanskej náuky Boh stvoril človeka, a stvoril i zvery, ktoré mu mali slúžiť. Je však potrebné poznamenať, že úloha tejto služby nadobúda rôzne podoby v závislosti od kultúrneho a vedeckého pokroku ľudstva. Využitie zvierat preto získava novú formu práve prostredníctvom xenotransplantácie, ktorá ale nie je v rozpore s poriadkom sveta, práve naopak, predstavuje pre človeka ďalšiu príležitosť kreatívne naplňať Bohom udelenú povinnosť aby panoval nad svetom, zlepšoval ho, s rozumným využívaním sily, ktorú mu sám Boh udelil. Človek odpradáva využíval zvery na uspokojenie svojich primárnych potrieb ako jedla, oblečenia či pri práci a z tohto hľadiska preto xenotransplantáciám nič nebráni. Otázka akceptovateľnosti porušovania bariér medzi zvieracím druhom a človekom je však zložitejšia. Podľa stanoviska Pápežskej akadémie pre život, odvolávajúceho sa na Sväté písmo, má človek väčšiu dôstojnosť a unikátne postavenie zpočiatku všetkých žijúcich druhov, preto implantácia xenotransplantátu môže určitým spôsobom ovplyvniť jeho identitu. Nie všetky orgány ľudského tela, sú v rovnakej miere výrazom neopakovateľnej identity osoby, avšak orgány ako mozog a pohlavné žľazy, sú nerozlučne späté s osobnou psychickofyzickou identitou príjemcu vzhľadom k svojej špecifickej funkcii (The Roman Curia, 2001), to ale neplatí pri prenose jednotlivých neurálnych buniek, či tkanív určených pre vykonávanie analogických ľudských a zvieracích funkcií a preto musí byť každá transplantácia posudzovaná prípad od prípadu i so svojimi možnými následkami na zdravotný, psychický stav človeka, ale i vzhľadom na svoj možný dopad u budúcich generácií (Faggioni, 2012). Pracovná skupina Rady Európy pre xenotransplantácie (anglicky Council of Europe Working Party on Xenotransplantation) zdokumentovala náboženské postoje voči xenotransplantáciám a podľa prieskumu väčšina hlavných svetových náboženstiev považuje xenotransplantácie za prijateľné. V judaizme a islame je táto transplantácia považovaná za prijateľnú, keďže prvoradou hodnotou je chrániť, zachrániť ľudský život obdobne ako je to hlásané v kresťanskej viere. Aj keď je chov a konzumácia nečistých zvierat (ako prasiat) je v oboch náboženstvách zakázaná, tento zákaz nie je relevantný pri liečbe ľudských chorôb alebo záchrane života a preto transplantácia prasacieho xenotransplantátu je v súlade s ich náukou. Hinduizmus neuznávajú ako alotransplantácie tak xenotransplantácie, kvôli presvedčeniu, že telo musí byť

zachované celé, aby mohlo dôjsť k jeho reinkarnácii, i keď existujú výnimky na základe individuálnej voľby človeka. V tomto prípade sú akceptované prasacie poprídade ovčie orgány, pretože krava je posvätné hinduistické zviera. Podobne budhizmus daný proces neakceptuje, i keď sa niektorí budhisti môžu pre neho rozhodnúť v závislosti od ich dosiahnutého „štádia dokonalosti“. Etické správanie v budhizme má zamedzovať ľudskému no i zvieraciemu utrpeniu, v presvedčení, že obaja pociťujú bolesť vo svojom vedomí (Tallacchini, 2001).

Ďalšia bioetická dilema týkajúca sa xenotransplantácií nastáva v súvislosti s tvorbou ľudsko - zvieracích chimérických jedincov s plánovaným využitím v transplantačnej terapii. Vedecký tím zostavený z profesorov Nakauchima z Tokijskej univerzity, profesora Nagashima z Meiji univerzity či profesora Matsunariho úspešne vytvoril pankreas cudzieho pôvodu v prasati a tým vytvoril chimérického jedinca (cestou využitia kmeňových buniek a ich spojenia s host'ovským embryom). Cieľom totiž bolo týmto spôsobom vytvárať transplantovateľné ľudské orgány i keď je v súčasnej dobe vo väčšine krajín ako napr. V Japonsku je výskum s tvorbou ľudsko - zvieracích chimér prostredníctvom spájania zárodkov legislatívne zakázaný, naproti tomu USA túto oblasť výskumu vyslovene nezakázali. Hlavným cieľom je riešiť zásadnú otázku nedostatku darcovských orgánov a pri prekonaní legislatívnej bariéry by takto mohli byť ľudské orgány „pestované“ u zvierat čím by sa efektne vyriešil daný nedostatok orgánov (Matsunari et al., 2013). Neskôr Nakauchi v spolupráci so Standfordskou univerzitou získal v roku 2013 grant *Research Leadership Award from the stem cell agency* v hodnote 6.15 miliónov USD udelený inštitútom *the California Institute for Regenerative Medicine* - CIRM. Tento grant financuje výskum vytvárania chimérických tvorov obsahujúcich prasacie a ľudské bunky v laboratórnych podmienkach (California Institute for Regenerative Medicine, ©2013). Profesor týmto plánuje použiť zvieracieho jedinca slúžiaceho ako tzv. bioreaktor, v ktorom by rástol pacientov vlastný orgán. Tejto bioetickej problematike sme v našej práci komplexne venovali celú kapitolu rozoberajúcu bioetiku vytvárania chimérických jedincov. Profesor Nakauchi sa v Japonsku snažil o prijatie novely zákona, ktorá by mu podobný výskum umožnila, ale neúspešne, preto jeho výskum prebieha práve v USA. Taktiež si je vedomý, že nedokáže vytvoriť jedinca, ktorý by mal len izolovaný

chimérický orgán keďže sa momentálne nedokáže úplne ovplyvniť distribúcia chimérických buniek, čo so sebou nesie hlavné bioetické problémy. Do akej miery sa budú ľudské bunky podieľať na výstavbe zvieracieho mozgu? Bude ovplyvnený intelekt zvierťa? Bude potrebné sa k týmto jedincom správať inak ako k zvieratám? Tieto zásadné otázky sa profesor snaží riešiť, úpravou genómu príjemcových buniek a to tým, že by u buniek, ktoré by mohli ovplyvniť intelekt zvierťa (teda neurálne bunky) nastolil indukovanú apoptózu v momente ako by sa u zvierťa začali formovať. Chiméry sa taktiež budú chovať izolovane, bez možnosti kríženia s inými jedincami. Ďalšou z nezodpovedaných otázok však stále ostáva možnosť, že ľudský orgán pojme niektoré prasacie bielkoviny a bude pre imunitný systém recipienta obtiažne prijateľný (Petr, 2013).

Rovnako pomerne závažným bioetickým problémom sú kritéria alokácie jednotlivých xenotransplantátov. Ako uvádza M. Anderson v dôsledku politickej byrokracie môže dôjsť k selekcii ľudí z nižších socioekonomických skupín ako prvých recipientov. V USA je do dnešnej doby platný zákon The National Organ Transplant Act - NOTA, prijatý v roku 1984, ktorý rieši problematiku alokácii alotransplantátov. Tematiky xenotransplantácii sa však svojím obsahom dotýka len na základe porovnania alotransplantácie a xenotransplantácie. To, či ale nerovnosti v statuse recipienta vyústia vo väčší počet xenotransplantácii v určitých etnických, sociálnych, či vekových skupinách však doposiaľ nie je známe keďže ide o pomerne novú problematiku (Anderson, 2006). Podľa americkej asociácie *American Medical Association* - AMA, by mal byť tzv. alokačný protokol spravodlivý a xenotransplantáty považované za obmedzené medicínske zdroje a ich prerozdelenie by malo byť založené len na eticky vhodných kritériách v súvislosti s medicínskym využitím. Tieto kritéria zahŕňajú pravdepodobnosť prospechu, naliehavosť potreby, zmenu či zlepšenie kvality života, či v niektorých prípadoch množstvo prostriedkov potrebných pre liečbu (American Medical Association, 2012).

Xenotransplantácie nie sú ekonomicky efektívnou technológiou. Ide o metódu, ktorá oproti má alotransplantácii nielen vyššie riziko ale i náklady na svoje prevedenie, v odhadovanej hodnote až 300 000 USD na jednu operáciu

a to bez zarátania nákladov na špeciálne podmienky dodržiavané u chovu zvierat, ich kŕmenie, liečbu, transport, testovanie, likvidáciu odpadu a zvyškov transgénnych zvierat a mnoho ďalších. Americká FDA plánuje zriadenie registra pacientov so xenotransplantátom a popri ňom archív zdroja živočíšnych vzoriek tkanív, orgánov pričom odhadovaná cena registru sa odhaduje na približne 250 000 USD a archívu 1000 000 USD (Fano, ©2000).

2.3.2.2 Situácia xenotransplantácii v jednotlivých krajinách a ich platná legislatíva

➤ Kanada

V Kanade je v súčasnosti prebieha predklinický xenotransplantačný výskum na základe povolenia vydaného orgánom Health Canada (politický a regulačný orgán zodpovedný za verejné zdravie) (Wagner, Perez, 2010). Základnými právnymi normami regulujúcimi oblasť xenotransplantácie sú momentálne zákon *Canadian Food and Drugs Act* a nariadenia vlády *the Food and Drug Regulation* a *the Medical Devices Regulation* (The Government of Canada, 2006). Kanada si v priebehu rokov vyvinula vlastnú regulačnú štruktúru nazývanú *Standards Based Risk Management* - SBRM. Táto riadiaca organizácia vytvára štátom schválené pravidlá a štandardy pre bezpečnosť všetkých orgánov a tkanív používaných na transplantáciu vrátane xenotransplantátov. Tieto normy však považuje za akési vodítko pre plánovanie a rozvoj len vrámci spomínaných predklinických skúšok (Wagner, Perez, 2010). Jednako, politici si musia byť vedomí toho, že riadenie transplantácií a to i vo fáze klinických a preklinických štúdií v prípade neexistencie právne záväzného konkrétneho dokumentu týkajúceho sa danej situácie bude analogické ako v prípade absencie akýchkoľvek bezpečnostných opatrení. Preto sa vláda snaží, pred implementáciou tohto procesu zaviesť najprv také bezpečnostné opatrenia, ktoré by boli vymáhateľné prostredníctvom platného právneho rámca a i práve preto sú xenotransplantácie dodnes držané na úrovni predklinických skúšok a doposiaľ žiadne klinické xenotransplantačné skúšky na ľuďoch neboli v krajine schválené orgánom *Health Canada* (The Government of Canada, 2006).

➤ Európska únia

V Spojenom kráľovstve bol počiatok regulácie zo strany vlády spojený so zriadením poradnej skupiny pre etiku xenotransplantácií *The Advisory Group on the Ethics of Xenotransplantation* pod záštitou profesora Iana Kennedyho v roku 1996 (Wagner, Perez, 2010). V roku 1997 bola v krajine zriadená dočasná regulačná autorita UK Xenotransplantation Interim Regulatory Authority - UKXIRA, ktorá však bola v decembri 2006 ticho rozpustená a nahradená príručkou vydanou ministerstvom zdravia. V súčasnosti v krajine prebiehajú ako klinické skúšky, experimentálny výskum no v malej miere aj experimentálna liečba. Bezpečnosť a účinnosť xenotransplantačných klinických hodnotení sa dnes posudzuje regulačným orgánom *the Medicines Healthcare Products Regulatory Agency* a ich etické hľadisko je hodnotené miestnymi výskumnými etickými komisiami. Experimentálna liečba je hodnotená klinickým výborom *Trust's clinical governance committee* (McLean, Williamson, 2007). V krajine však nastala kontroverzná situácia potom ako sa na verejnosť dostali dokumenty o transplantačných pokusoch umiestnenia prasacích orgánov do tiel pavánov a menších opíc, čo následne pobúrilo skupiny ochrancov zvierat. Dokumenty unikli do verejnej tlače v septembri 2000 a tým sa začali hlavné spory týkajúce sa zaobchádzania so zvieratami a ich práv, ktoré neutíchli dodnes. Tento konflikt bol rozhodujúcim faktorom pre biotechnologickú spoločnosť Imutran (Novartis), ktorá tieto pokusy financovala, na to aby ukončila svoju činnosť na tomto území a presťahovala sa do USA (Wagner, Perez, 2010). Tieto dokumenty pod názvom *Diaries of Despair* sú dnes dostupné širokej verejnosti v internetovej forme pričom mená jednotlivcov a spolupracujúcich inštitúcií, rovnako ako názvy liekov a režimy dávkovania boli zdokumentov odstránené. Táto kauza umožnila informovanú verejnú diskusiu zaoberajúcu sa právami zvierat, ktoré v krajine definuje zákon *The Animals act*, následne hodnotené na základe licencie vydané napr. výskumnému pracovisku štátnym tajomníkom (Lyons, 2000).

Čo sa týka situácie xenotransplantácií vo Francúzsku, štátna inštitúcia *The Etablissement français des Greffes* v krajine zriadila výbor pre skúmanie a analýzu vývoja xenotransplantácií, ktorý je momentálne v procese vytvárania dokumentov, či smerníc ohľadom bezpečnostného rizika tohto procesu. Etické

aspekty transplantácie zvieracích orgánov rieši národná poradná etická komisia *The National Advisory Ethics Committee* (Wagner, Perez, 2010).

V Nemecku nasledujúc minisymposium zvolané Paulom Ehrlichom v roku 1998, prebehol nemecký lekársky koncil *Die Bundesärztekammer*, ktorý vytvoril komisiu pre prípravu usmernení týkajúcich sa xenotransplantácií určených pre lekársku komunitu. Dôležitým právnym aktom ošetrojúcim túto problematiku je zákon *Gentechnikgesetz*, o genetickom inžinierstve, prijatý v roku 1990, pozmenený v roku 1993. V súčasnosti etické aspekty v Nemecku prebiehajúcich štúdií spadajú pod pôsobnosť miestnych etických komisií (Organisation for Economic Co-operation and Development, ©2015b).

Podľa OECD limitované klinické štúdie práve prebiehajú alebo sú plánované v rámci Európy, okrem spomínanej Veľkej Británie a Nemecka aj v Španielsku a Belgicku (The Government of Canada, 2006).

V Českej republike neprebíha žiaden výskum so xenotransplantáciami a v krajine doposiaľ neexistuje žiaden zákon, ktorý by špecificky či len okrajovo zahŕňal túto tému. *Transplantačný zákon č. 285/2002 Sb.* nie je v tomto prípade priamo aplikovateľný keďže pojednáva len o ľudsko - ľudských transplantáciách a jeho ustanovenia možno použiť len ako analógiu. Zvieratá geneticky modifikované tak aby nespôsobovali orgánovu rejekciu pokrýva *Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty*. Teoreticky by bolo možné využiť i *Zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech*, pretože farmaceutické produkty sú v ňom široko definované a živé zvieracie orgány by tak mohli spadať pod tento právny predpis. Tým by takému výskumu muselo predchádzať štátne povolenie, keďže štát reguluje farmaceutický výskum, no i povolenie nezávislej etickej komisie na každý z projektov. Ak by tento zákon nebolo možné použiť, k danému výskumu by muselo dať súhlasné stanovisko *Ministerstva zdravotnictví* ČR a to s konkrétnymi podmienkami. Je však i naďalej málo pravdepodobné, že by takýto výskum v krajine bol schválený štátnou autoritou či lokálnymi výskumnými etickými komisiami (Taupitz, Weschka, 2009).

Pre všetky krajiny patriace do EÚ Rada Európy vydala v roku 2001 finálnu verziu spoločne uznávaného stanoviska na túto tému *Opinion of the State on the Art concerning Xenotransplantation*, ktoré malo podávať základné informácie pre EÚ a taktiež napomáhať identifikovať problémy, ktorých riešenie si vyžaduje globálny charakter (McLean, Williamson, 2005). Rada v tomto dokumente uviedla vôbec najvhodnejšie zvieratá pre xenotransplantácie a to prasa. Pokiaľ ide o opatrenia prijaté jednotlivými štátmi správa poukazuje na skutočnosť, že doposiaľ nebol vytvorený žiaden mechanizmus na zbieranie a zdieľanie informácií medzi štátmi, ani platná celoeurópska legislatíva. Rada taktiež navrhla istú formu registrácie klinických štúdií zaoberajúcimi sa touto tematikou (Scientific Committee on Medicinal Products and Medical Devices, 2001). Vo februári 2003 vydala pracovná skupina Rady Európy kompletnú verziu správy ohľadom xenotransplantácií *Report on the State of the Art in the Field on Xenotransplantation*, ktorá venuje značnú pozornosť práve bioetike tohto procesu a mimo iné podáva taktiež argumenty proti xenotransplantáciám s využitím primátov (kvôli blízkej genetickej informácii a rozsiahlej palete endogénnych vírusov, baktérií, húb, parazitov) a uvádza, že práve verejný názor bude základným predpokladom rozvoja tejto formy terapie. Uvádza, že transplantácia zo zvierat na človeka môže nastať len ak sú splnené všetky jej podmienky vrátane toho, že členský štát musí mať určitú funkčnú regulačnú štruktúru a musí byť zaistená jej bezpečnosť. Pracovná skupina Rady Európy týmto dozerá na všetky štádiá výskumu a implementácií regulačných opatrení do národnej politiky 27 krajín. Taktiež zriadila výbor ministrov *The Committee of Ministers* ako svoj výkonný orgán. Na niektoré z 27 krajín zahrňujúc Albánsko, Chorvátsko, Turecko, Litvu, Maltu, Cyprus, Bulharsko, Maďarsko, Slovenskú republiku, Českú republiku, Gruzínsko a Andoru či Fínsko dozerá Rada i keď u nich neprebíha žiadna forma xenotransplantácií. Naproti tomu, Belgicko, Francúzsko, Španielsko, Holandsko, Švajčiarsko, Veľká Británia, Nemecko a Taliansko aspoň v malej miere uskutočňujú výskum v tejto oblasti. Vo Švédsku neprebiehajú v súčasnosti klinické štúdie i keď v minulosti prebehli dva takéto výskumy (*The Committee of Ministers of the Council of Europe Working Party on Xenotransplantation et al.*, 2003).

➤ USA

V roku 2001 zdravotnícky systém USA *The United States Public Health Service* publikoval dokument týkajúci sa infekčných ochorení v súvislosti so xenotransplantáciami. Išlo o produkt pracovnej skupiny ministerstva zdravotníctva a sociálnych služieb *the Department of Health and Human Services Interagency Working Group on Xenotransplantation* založenej už v 1996 roku. Tento výkonný orgán pozostáva zo zástupcov FDA, zástupcov amerického inštitútu *National Institutes of Health* a stredísk pre kontrolu a prevenciu chorôb (anglicky *Centre for disease control and prevention - CDC*), *Health Resource Services Administration - HRSA*, a zamestnancov Úradu námestníka ministra pre plánovanie a vyhodnocovanie (anglicky *Office of the assistant secretary for planning and evaluation - OASPE*) a dohliada na bezpečnosť verejného zdravia a minimalizáciu potencionálnych rizík tejto metódy v Spojených štátoch. Ministerstvo súbežne založilo poradnú nezávislú komisiu pre xenotransplantácie *the Secretary's Advisory Committee on Xenotransplantation - SACX*, ktorá hodnotí celý rad zložitých vedeckých, lekárskech, sociálnych a etických xenotransplantačných otázok a národnú databázu *National Xenotransplantation Database - NXD* pre účely dohľadu, ktorá je stále v pilotnej podobe a je spravovaná cez FDA. FDA je rovnako orgánom zodpovedným za reguláciu klinicky prebiehajúcich xenotransplantácií a zverejnila niekoľko dokumentov s pokynmi a odporúčaniami pre sponzorov xenotransplantačných klinických štúdií voľne dostupných na internete. Všetky prebiehajúce limitované klinické štúdie sú dnes pod kontrolou FDA, pričom úrad vydal konkrétne regulačné dokumenty týkajúce sa štúdií napr. extrakorporálnej hemoperfúzie prostredníctvom izolovaných prasacích hepatocytov pri fulminantnom zlyhávaní pečene, či transplantáte fetálnych ošipovaných nervových buniek u pacientov s refraktérnou Parkinsonovou chorobou a inými neurologickými chorobami (Organisation for Economic Co-operation and Development, ©2015c). Podľa pokynov vlády USA pre výskum v tejto oblasti *US Governmental guidelines on xenotransplantation research*, sa zdravotný stav dobrovoľných účastníkov štúdií má sledovať po celú dobu ich života (rovnaké odporúčania vydala americká asociácia AMA) a to aj v prípade, že im transplantovaná časť bola z akýchkoľvek dôvodov odstránená a dokumentácia

sa má uchovávať minimálne 50 rokov. AMA taktiež trvá na tom, že deti a nesvojprávní občania sa daných štúdií nesmú zúčastňovať (Rigaud, 2008).

➤ **Austrália**

V roku 2001 v Austrálii výskumná rada *The National Health and Medical Research Council* - NHMRC zriadila pracovnú skupinu na určenie či klinické skúšky v krajine môžu byť povolené, pričom výsledkom procesu verejných konzultácií bolo vládne vyhlásenie päťročného moratória na všetky transplantačné skúšky, ktoré trvalo do roku 2009 kedy rada povolila xenotransplantačný výskum v krajine za daných podmienok. Regulačným orgánom klinických štúdií tejto povahy bude štátny orgán *The Therapeutic Goods Administration* a budú dodržané počas rokov moratória vypracované požiadavky rady určené pre výskumných pracovníkov a hodnotiace etické komisie (National Health and Medical Research Council, 2014).

3. DISKUSIA

Bioetika ako forma etickej reflexie k novodobým problémom vedy sa snaží nielen zhodnotiť všetky dôležité aspekty, ktoré so sebou prinášajú hodnotený objekt či metóda, ale snaží sa určiť istý pomer medzi jeho prospešnosťou či škodlivosťou pre ľudskú spoločnosť. Ide však o vedu filozofickú a preto jej výstupy tvoria podľa nás skôr akýsi návod než záväzné uznesenie o jeho etickosti a vhodnosti.

Bioetické zhodnotenie chimérizmu a mikrochimérizmu samo o sebe naráža na mnoho ťažkostí súvisiacich predovšetkým s rýchlym napredovaním vedy ako takej, ktorej sa preto častokrát nedokáže prispôbiť a mnoho postupov tak spomaľuje alebo umelo udržuje dovedy, kým na ňu nie je spoločnosť schopná reagovať a eticky posúdiť. No keďže ide o metódy, ktoré sa samy o sebe môžu značne líšiť a prinášať tak rozmanité bioetické problémy, o komplexnosti a všeobecnej aplikovateľnosti bioetického zhodnotenia chimérizmu či mikrochimérizmu nemôžeme hovoriť. Existuje preto potreba bioetického zhodnotenia každého takéhoto postupu individuálne prípad od prípadu. Bioetické posúdenie problematiky ale pokladáme za jeden z kľúčových bodov potrebných pre vytvorenie účinnej legislatívy danej krajiny.

Podľa názoru Andrey L. Bonnicksen (2009), ak by došlo k zákazu využívania týchto metód či príliš restriktným opatreniam zo strany vlády, pravdepodobne žiaden výskum by takto nemohol byť povolený a preto cieľom regulačných orgánov nie je nevyhnutne ich zákaz, skôr adekvátne usmernenie, aby tak štát mohol kontrolovať jeho priebeh v eticky akceptovateľnom rozmezí a právne zamedzil jeho nelegálnym formám či formám využívajúcim legislatívne nepresnosti a nezrovnalosti.

Autori tzv. „*Chimbrids*“ projektu, ktorý vznikol špeciálne za účelom bioetického posúdenia chimér či hybridov vo výskume, tieto štátom vhodne zvolené regulácie považujú za formu tzv. „princípu predbežnej opatrnosti“, ktorý zamedzuje patričným rizikám, v zhode s názorom profesorky Bonnicksenovej. No autori projektu ďalej poukazujú i na skutočnosť, že takýto výskum v podstate obchádza tak citlivú záležitosť akou je užitie ľudských embryí na vedeckej pôde, či už z politického alebo morálneho hľadiska, pretože ide často o medzidruhových jedincov (spojením ľudského a zvieracieho biologického

materiálu) a svojou podstatou by tieto postupy obchádzali taktiež opatrenia týkajúce sa práv zvierat keďže by terminologicky nemuseli spadať pod existujúcu platnú legislatívu (Taupitz, Weschka, 2009). Túto skutočnosť považujeme za veľmi nebezpečnú, otvárajúc tak možnosť obídenia zákonov pojednávajúcich ako o ľudských tak o zvieracích právach, a preto považuje priam za nevyhnutnosť zahrnúť metódy chimérizmu, mikrochimérizmu do legislatívy každého štátu kde by malo dôjsť či došlo k ich využitiu.

Rovnako je podľa nášho presvedčenia vhodné zavedenie určitých základných regulácií platných pre všetky štáty, čím by bolo aspoň zčasti ošetrené riziko tzv. „výskumného turizmu“ a teda lokácie výskumu či terapie do štátu s menej striktnými pravidlami. Obsiahnuť celú problematiku chimérizmu a mikrochimérizmu s ich konkrétnymi možnosťami chimérického jedinca je z právnej stránky ale viac ako nereálne. Prezentácie konkrétnych chimérických buniek, ich presné umiestnenie v tele chiméry či výskyt chimérických buniek v, pre ľudskú identitu tak citlivých sústavách ako je centrálny nervový systém a pohlavné orgány, pomer ľudských a zvieracích buniek v zvieraco - ľudských chimérach, či vývojové štádium vytvorenej chiméry vytvára enormné množstvo špecifických okolností pre určitý výskum. Preto hovoríme len o základných spoločných pravidlách, ktoré by postihovali problematiku v jej najdôležitejších bodoch. Išlo by teda o nastolenie tzv. globálnej politiky, ale len v jej elementárnej podobe. Potreba tejto globálnej etiky či aspoň naliehavosť započatia medzinárodnej diskusie a konzultácii ohľadom tejto témy koreluje s názorom, ktorý prezentujú doktori Jones, Mackellar (2012). Takýmto postupom by boli základné stanovy výskumu vopred legislatívne určené a k posúdeniu výskumných projektov by boli vyvorené nezávislé bioetické komisie, ktoré by podľa nášho názoru mali byť vždy zložené nielen z odborníkov z medicíny, biológických a genetických vedných disciplín ale i ekonómov, právnikov, bioetikov a zástupcov laickej verejnosti, aby tak bolo dodržané určité neustranné a ucelene vytvorené stanovisko. Podobný názor na medzidisciplinárny charakter posudzujúcej skupiny odborníkov majú i autori Taupitz, Weschka (2009).

Realita je však značne odlišná. Čo sa týka ľudsko - zvieracích kombinácií, tie doposiaľ neboli zvažované na medzinárodnej úrovni a neexistuje k nim žiaden právny predpis (Jones, Mackellar, 2012). Ostatné právne predpisy

daných štátov ktoré sa akýmkoľvek spôsobom dotýkajú tohto okruhu, značne variujú a nemôžeme vraviť o ich globálnej prepojenosti.

Ako sme z našej práce zistili, len v malom počte krajín je chimérický výskum sám o sebe legislatívne ošetrovaný. Výnimku tvoria Južná Kórea, Kanada, Švajčiarsko, Nemecko, a Estónsko s čisto prohibičným postojom k všetkým jeho formám. Na opačnej strane stojí Japonsko, ktoré necháva otvorenú možnosť všetkým formám výskumu a ošetruje len ich implantáciu do ľudského tela, ktorú vyslovene zakazuje. V ostatných štátoch ako je USA, Austrália, Veľká Británia by za určitých podmienok mohol výskum prebiehať v závislosti na štátnom schválení. V Českej republike, podobne ako v Slovenskej republike doposiaľ neprebíhal žiaden takýto výskum a v krajine neexistuje ani žiaden zákon, ktorý by danú problematiku spracovával (Taupitz, Weschka, 2009).

Obdobná situácia v Česku je i v oblasti xenotransplantácií (Taupitz, Weschka, 2009), čím sa krajina pridáva k zoznamu štátov kde xenotransplantačný výskum doposiaľ neprebíha, a to napríklad k Albánsku, Chorvátsku, Turecku, Litve, Malte, Cypru, Bulharsku, Maďarsku a Slovenskej republike. Rovnako v krajine neexistuje žiaden zákon, ktorý by čo len okrajovo priamo usmerňoval túto oblasť. Naproti tomu klinické xenotransplantačné štúdie, ako sme zistili prebiehajú vo Veľkej Británii, Nemecku, Španielsku, Belgicku, Taliansku (The Committee of Ministers of the Council of Europe Working Party on Xenotransplantation et al., 2003), i v USA a čo sa týka Francúzska, to je momentálne v procese vytvárania legislatívnych dokumentov podobne ako Kanada kde v súčasnosti môže prebiehať len minimálny predklinický xenotransplantačný výskum (Taupitz, Weschka, 2009).

Česká republika podľa týchto zistení výrazne zaostáva za ostatkom Európy či sveta keďže doteraz neprijalo žiadne „chimérisko špecifické regulácie“ (Taupitz, Weschka, 2009) a ak by nastala situácia kedy by sa v krajine mal diať tento výskum, nebolo by adekvátne pripravené a pravdepodobne by mu museli predchádzať úpravy v legislatíve, čo by ho výrazne oddialilo či znemožnilo. Nazdávame sa teda, že by bolo vhodné pripraviť samostatný zákon ohľadom výskumu ako takého, kde by aspoň okrajovo boli chiméry spomenuté, či samostatný zákon ohľadom xenotransplantácií, poprípade iba novelizácia stávajúceho transplantačného

zákona. Ostatok by bol prenechaný na rozhodnutie už existujúcej *Bioetickej komisie pro výzkum, vývoj a inovace* poprípade na *Ministerstvo zdravotnictví* či *Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky*. I to by danú problematiku vyriešilo iba okrajovo, no podľa nás je dôležité, aby krajina aspoň týmto spôsobom reagovala na toto rýchlo sa rozvíjajúce sa pole vedeckého výskumu.

4. ZÁVER

Podstatou tejto diplomovej práce bolo zhodnotenie využitia metód založených na chimérizme, mikrochimérizme. Tieto metódy so sebou prinášajú stále nové možnosti pochopenia vzniku a priebehu niektorých ľudských, často na genetickom podklade založených chorôb práve vďaka vytváraniu modelových chimérických či mikrochimérických organizmov, na ktorých je toto sledovanie uskutočniteľné, no i možnosť terapie prostredníctvom xenotransplantácií. Z toho vyplýva ich enormný potenciál v liečbe širokej škály ľudských ochorení.

Ak však nazrieme na morálnu stránku problematiky, existujú isté bioetické dilemy, ktoré súvisia s ich praktickým uplatnením, ako vyplýva z predchádzajúceho textu tejto práce. Preto sa kladie veľký dôraz práve na ich bioetické zhodnotenie ešte pred ich samotných započatím.

Komplexné zhodnotenie tejto problematiky ale nie je vďaka jej obširnosti reálne. I keď existujú spoločné problémy týchto metód, ktoré sa dajú posúdiť spoločne, individuálne postupy sa môžu od seba značne líšiť ako stručne načrtol text našej práce a preto i pri bioetickom pojednávaní dochádza k oddeleniu problematiky chimérického výskumu a xenotransplantácií ako dvoch samostatných entít, čoho sme sa pridržali i v tejto práci.

Jednotlivé štáty sú ešte stále v procese zaujímania konkrétneho postoja voči postupom, vytvárajú si účinný regulačný systém zaisťujúci ochranu spoločnosti a regulácie výskumu, predklinických či klinických štúdií na človeku i na zvieratách a následnej terapie. Legislatívne pravidlá štátov sa často líšia a priamo súvia s bioetickým zhodnotením chimérického výskumu a xenotransplantácií v danej krajine. A ako sme zistili Česká republika doteraz nemá účinný postup či systém, ktorým by problematiku chimérizmu, mikrochimérizmu vyslovene ošetrovala.

5. POUŽITÉ SKRATKY

Skratka slova	Anglický preklad	Význam
AMA	American Medical Association	Americká medicínska asociácia
ASPA	the Animals Act, Scientific procedures	(zákon týkajúci sa zvierat a výskumných postupov, platný vo Veľkej Británii)
CIHR	the Canadian Institutes of Health Research	(kanadský inštitút zdravotníckeho výskumu)
EC	embryonal cells	embryonálne bunky
ESC	embryonal stem cells	embryonálne kmeňové bunky
FDA	Food and drug Administration	Úrad pre potraviny a liečivá (americký inštitút)
hESC	human embryonal stem cells	ľudské embryonálne kmeňové bunky
HFEA	the Human Fertilisation and Embryology Act	(zákon o ľudskej fertilizácii a embryológii platný vo Veľkej Británii)
IVF	in vitro fertilization	in vitro fertilizácia (umelé oplodnenie)
IPS	induced pluripotent stem cells	indukované pluripotentné kmeňové bunky
ISSCR	the International Society for Stem Cell Research	(medzinárodná nezávislá spoločnosť pre výskum na kmeňových bunkách)
NSC	neural stem cells	neuronálne kmeňové bunky
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	Organizácia pre hospodársku spoluprácu a rozvoj

PERV A, B, C	Porcine endogenous retrovirus A, B, C	(prasací endogénny vírus subtyp A, B, C)
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization	Organizácia Spojených národov pre výchovu, vedu a kultúru
WHO	World Health Organization	Svetová zdravotnícka organizácia

6. ZOZNAM TABULIEK

Tabuľka č. 1: Kategórie chimér na základe prevládajúceho biologického materiálu 45

7. ZOZNAM OBRÁZKOV

Obrázok č. 1: Chimaera of Arezzo, z obdobia 400 p.n.l., ako predmet etruskej mytológie (Guerrini, 2009) 21

Obrázok č. 2: Blaschkove línie v brušnej oblasti u 6 ročného chlapca (Lipsker et al., 2008) 26

8. POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ABUELO, D., 2009. Clinical significance of chimerism. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* [online]. 15.5., roč. 151C, č. 2, s. 148-151 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1552-4876. Dostupné z: doi:10.1002/ajmg.c.30213
2. ADAMS W., K. M. a J. L. NELSON, 2008. Autoimmune Disease During Pregnancy and the Microchimerism Legacy of Pregnancy. *Immunological Investigations* [online]. 1.1., roč. 37, č. 5-6, s. 631-644 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0882-0139. Dostupné z: doi:10.1080/08820130802205886
3. AKADEMIE VĚD ČR, 2014. Zasedání výboru pro bioetiku. *Akademický bulletin, Oficiální časopis Akademie věd ČR* [online]. 14.11., č. 11/2014 [cit. 2. marec 2015]. ISSN 1210-9525. Dostupné z: <http://abicko.avcr.cz/2014/11/07/bioetika.html>
4. AL-MUHSEN, S. Z., 2010. Delayed presentation of severe combined immunodeficiency due to prolonged maternal T cell engraftment. *Annals of Saudi Medicine* [online]. roč. 30, č. 3, s. 239-242 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0256-4947. Dostupné z: doi:10.4103/0256-4947.62834
5. ALMEIDA-PORADA, G., C. D. PORADA, J. CHAMBERLAIN, A. TORABI a E. D. ZANJANI, 2004. Formation of human hepatocytes by human hematopoietic stem cells in sheep. *Blood* [online]. 15.10., roč. 104, č. 8, s. 2582-2590 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0006-4971, 1528-0020. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2004-01-0259
6. AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, 2012. AMA Code of Medical Ethics' Opinions on Organ Transplantation. *Virtual Mentor, American Medical Association Journal of Ethics* [online]. roč. 14, č. 3, s. 204-214 [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: doi:10.1001/virtualmentor.2012.14.3.coet1-1203
7. BIANCHI, D. W., G K ZICKWOLF, G J WEIL, S SYLVESTER a M A DEMARIA, 1996. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 23.1., roč. 93, č. 2, s. 705-708. ISSN 0027-8424.
8. BISSIG, K. D., S. F. WIELAND, P. TRAN, M. ISOGAWA, T. T. LE, F. V. CHISARI a I. M. VERMA, 2010. Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment. *The Journal of*

Clinical Investigation [online]. 1.3., roč. 120, č. 3, s. 924-930 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI40094

9. BONNICKSEN, A. L, 2009. *Chimeras, Hybrids and Interspecies Research: Politics and Policymaking*. 1. vyd. Washington, D.C.: Georgetown University Press, 14-16, 27-55, 132 s. ISBN 978-1-58901-574-6.
10. BRINSTER, R. L. a M. R. AVARBOCK, 1994. Germline transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 22.11., roč. 91, č. 24, s. 11303-11307. ISSN 0027-8424.
11. BROWN, T. A., 2007. *Klonování genů a analýza DNA: úvod*. 1. české vyd. Preklad Martin Fellner. V Olomouci: Univerzita Palackého, s. 156, 368 ISBN 978-802-4417-196.
12. BRYANT, J., L. B. LA VELLE a J. SEARLE, 2005. *Introduction to Bioethics*. West Sussex, ENgland: John Wiley& Sons, s. 23, 27, 188 ISBN 04-700-2198-5.
13. CALIFORNIA INSTITUTE FOR REGENERATIVE MEDICINE, ©2013. Stem Cell Agency Helps Stanford Recruit World Renowned Expert. *CIRM, California's Stem Cell Agency, California Institute for Regenerative Medicine* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <https://www.cirm.ca.gov/about-cirm/newsroom/press-releases/11182013/stem-cell-agency-helps-stanford-recruit-world-renowned>
14. CARDIFF UNIVERSITY, [s.a]. Home. *The Centre for Ethics, Law and Society - Cardiff University* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.ccels.cardiff.ac.uk/>
15. CENTRE FOR APPLIED BIOETHICS, ©2010. Welcome to the Centre for Applied Bioethics, About Us. *Centre for Applied Bioethics, The University of Nottingham* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.nottingham.ac.uk/bioethics/>
16. CLARKE, D. L., C. B. JOHANSSON, J. WILBERTZ, B. VERESS, E. NILSSON, H. KARLSTRÖM, U. LENDAHL a J. FRISÉN, 2000. Generalized Potential of Adult Neural Stem Cells. *Science* [online]. 6.2., roč. 288, č. 5471, s. 1660-1663 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.288.5471.1660

17. COOPER, D. K. C., 2012. A brief history of cross-species organ transplantation. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*. 1., roč. 25, č. 1, s. 49-57. ISSN 0899-8280.
18. CRYAN, J. F. a K. KAUPMANN, 2005. Don't worry 'B' happy!: a role for GABAB receptors in anxiety and depression. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 1., roč. 26, č. 1, s. 36-43 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0165-6147. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2004.11.004
19. CYRANOSKI, D., 2008. Stem cells: 5 things to know before jumping on the iPS bandwagon. *Nature News* [online]. 26.3., roč. 452, č. 7186, s. 406-408 [cit. 26. február 2015]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/452406a
20. DALEY, G. Q., L. AHRLUND RICHTER, J. M. AUERBACH, N. BENVENISTY, R. A. CHARO, G. CHEN, H. DENG, L. S. GOLDSTEIN, K. L. HUDSON, I. HYUN, S. C. JUNN, J. LOVE, E. H. LEE, A. MCLAREN, C. L. MUMMERY, N. NAKATSUJI, C. RACOWSKY, H. ROOKE, J. ROSSANT, H. R. SCHÖLER, J. H. SOLBAKK, P. TAYLOR, A. O. TROUNSON, I. L. WEISSMAN, I. WILMUT, J. YU a L. ZOLOTH, 2007. Ethics. The ISSCR guidelines for human embryonic stem cell research. *Science (New York, N.Y.)* [online]. 2.2., roč. 315, č. 5812, s. 603-604. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1139337
21. DICKINSON, A., 2002. Xenotransplantation: Issues and Challenges, Issue 6. *The Nathaniel Centre, The New Zealand Catholic Bioethics Centre* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.nathaniel.org.nz/component/content/article/13-bioethical-issues/what-is-bioethics/82-xenotransplantation-issues-and-challenges>
22. DROBNÍK, J., 2008. *Biotechnologie a společnost*. 1. vyd. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, s. 13-14 ISBN 978-80-246-1484-7.
23. DROZENOVÁ, W., 2010. *Etika vědy v České republice: od historických kořenů k současné bioetice*. 1.vyd. Praha: Filosofia, s. 179-187 ISBN 978-80-7007-348-3.
24. EKSER, B., M. EZZELARAB, H. HARA, D. J. VAN DER WINDT, M. WIJKSTROM, R. BOTTINO, M. TRUCCO a D. K. C COOPER, 2012. Clinical xenotransplantation: the next medical revolution? *The Lancet* [online]. 24.2., roč. 379, č. 9816, s. 672-683 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(11)61091-X

25. EUN, J. K., K. A. GUTHRIE, G. ZIRPOLI a V. K. GADI, 2013. In Situ Breast Cancer and Microchimerism. *Scientific Reports* [online]. 12.7., roč. 3 [cit. 25. február 2015]. Dostupné z: doi:10.1038/srep02192
26. EUROSTEMCELL, [s.a]. Regulation of stem cell research in Europe | Europe's stem cell hub | EuroStemCell. *EuroStemCell* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.eurostemcell.org/stem-cell-regulations>
27. EUROSTEMCELL, 2011. Embryonic stem cell research: an ethical dilemma. *EuroStemCell* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.eurostemcell.org/factsheet/embyronic-stem-cell-research-ethical-dilemma>
28. EUROSTEMCELL, 2012. Regulation of stem cell research in Switzerland | Europe's stem cell hub | EuroStemCell. *EuroStemCell* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.eurostemcell.org/regulations/regulation-stem-cell-research-switzerland>
29. FAGGIONI, M. P., 2012 *Život v našich rukách: Manuál teologickej bioetiky*. 2. vyd. Spišské Podhradie: Spišská Kapitula, s. 25, 30, 37, 223 ISBN 978-80-970944-4-7.
30. FANO, A., ©2000. What's Wrong With Xeno? *CRT, Campaign for Responsible Transplantation* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.crt-online.org/wrong.html>
31. FEHILLY, C. B., S. M. WILLADSEN a E. M. TUCKER, 1984. Interspecific chimaerism between sheep and goat. *Nature* [online]. 16.2., roč. 307, č. 5952, s. 634-636 [cit. 25. február 2015]. Dostupné z: doi:10.1038/307634a0
32. FILIP, S., J. MOKRÝ a I. HRUŠKA, 2006. *Kmenové buňky: Biologie, medicína, filozofie*. 1. vyd. Praha: Galén, s. 185-193 ISBN 80-7262-401-6.
33. FINK, J. S., J. M. SCHUMACHER, S. L. ELLIAS, E. P. PALMER, M. SAINT-HILAIRE, K. SHANNON, R. PENN, P. STARR, C. VANHORNE, H. S. KOTT, P. K. DEMPSEY, A. J. FISCHMAN, R. RAINERI, C. MANHART, J. DINSMORE a O. ISACSON, 2000. Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results. *Cell Transplantation*. 4., roč. 9, č. 2, s. 273-278. ISSN 0963-6897.

34. FLEGR, J., 2009. *Evoluční biologie*. 2. opr. a rozš. vyd. Praha: Academia, s. 242 ISBN 978-80-200-1767-3.
35. FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER, ©2015. Welcome to the Nelson Laboratory, Lee Nelson laboratory - University of Washington, Microchimerism Website. *Nelson Lab, Fred Hutchinson Cancer Research Center* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://labs.fhcrc.org/lnelson/>
36. FUGAZZOLA, L., V. CIRELLO a P. BECK-PECCOZ, 2011. Fetal microchimerism as an explanation of disease. *Nature Reviews. Endocrinology* [online]. 2., roč. 7, č. 2, s. 89-97. ISSN 1759-5037. Dostupné z: doi:10.1038/nrendo.2010.216
37. GÁLOVÁ, Z. et al., 2013. *Metódy a techniky génových manipulácií*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 152-156 ISBN 978-80-552-1092-6.
38. GLEICHER, N., 2007. Why much of the pathophysiology of preeclampsia-eclampsia must be of an autoimmune nature. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. 1., roč. 196, č. 1, s. 5.e1-5.e7 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0002-9378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2006.09.016
39. GUERRINI, F., 2009. archive chimaera. *Art Tattler International, Chimaera of Arezzo, Etruscan, 400 BC, Museo Archeologico Nazionale di Firenze* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://arttattler.com/archivechimaera.html>
40. HAŠKOVCOVÁ, H., 2002. *Lékařská etika: Třetí, rozšířené vydání*. 3. vyd. Praha: Galén, s. 11-18, 75-77 ISBN 80-7262-132-7.
41. HO, M. W., 2000. *Genetické inženýrství: naděje, nebo hrozba?*. 1. vyd. Ing. Táňa Chudáčková. Praha: Alternativa, s. 205 ISBN 80-85993-52-X.
42. CHEN, Y.Z. X. HE, A. LIU, K. WANG, W. W. MAO, J. X. CHU, Y. LU, Z. F. FANG, Y. T. SHI, Q. Z. YANG, D. Y. CHEN, M. K. WANG, J. S. LI, S. L. HUANG, X. Y. KONG, Y. Z. SHI, Z. Q. WANG, J. H. XIA, Z. G. LONG, Z. G. XUE, W. X. DING a H. Z. SHENG, 2003. Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes. *Cell Research* [online]. 8., roč. 13, č. 4, s. 251-263 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1001-0602. Dostupné z: doi:10.1038/sj.cr.7290170

43. INSERM, [s.a]. What's Inserm? The Institute Missions. *Inserm, Institut national de la santé et de la recherche médicale* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://english.inserm.fr/what-s-inserm/the-institute-missions>
44. ISRAELI, E., V. FONG, S. MITCHELL, J. HARRISON a A. SCHOMER, [s.a]. Xenotransplantation, Current Areas of Research. *Transplant Rejection Treatment* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2004_Groups/Group04/Xenotransplantation.htm
45. JÁN PAVOL II., 1995. Dokumenty pápežov, Encyklika pápeža Jána Pavla II., *Evangelium Vitae. Katolícka cirkev na Slovensku* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.kbs.sk/obsah/sekcia/h/dokumenty-a-vyhlasenia/p/dokumenty-papezov/c/evangelium-vitae>
46. JONES, D. A. a C. MACKELLAR (ed.), 2012. *Chimera's Children: Ethical, Philosophical and Religious Perspectives on Human-nonhuman Experimentation*. 1.vyd. London: Bloomsbury Continuum, 240 str. ISBN 9781441198860.
47. KARA, R. J., P. BOLLI, I. KARAKIKES, I. MATSUNAGA, J. TRIPODI, O. TANWEER, P. ALTMAN, N. S. SHACHTER, A. NAKANO, V. NAJFELD a H. W. CHAUDHRY, 2012. Fetal cells traffic to injured maternal myocardium and undergo cardiac differentiation. *Circulation Research* [online]. 6.1., roč. 110, č. 1, s. 82-93. ISSN 1524-4571. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.249037
48. KOŘENEK, J., 2004. *Lékařská etika*. 2. vyd. Praha: TRITON s.r.o., 240 str. ISBN 80-7254-538-8.
49. KOVAL'OVÁ, D., 2013. *Bioetika a prípadové štúdie*. 1. vyd. Banská Bystrica: DALI-BB, s.r.o, s. 5, 22, 29, 76, 84 ISBN 978808141049-9.
50. KOVAL'OVÁ, D., P. FOBEL, V. ĎURČÍK a D. IGNJATOVIČOVÁ, 2009. *Bioetika ako akademická a profesionálna špecializácia*. 1. vyd. Banská Bystrica: Fakulta humanitných vied Univerzita Mateja Bela, s. 37, 42-45 ISBN 978-80-8083-820-1
51. KUŘE, J. et al., 2012. *Kapitoly z lékařské etiky*. 2. upr. vyd. Brno: Masarykova Univerzita, s. 11-13 ISBN 978-80-210-5951-1.
52. KUTNOHORSKÁ, J., 2007. *Etika v ošetrovatelství*. 1. vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 11-14, 18, 19, 21, 23, 29, 30 s. ISBN 978-802-4720-692.

53. LEŠKOVÁ BLAHOVÁ, A., 2010. *Bioetika v kontextoch etiky sociálnych dôsledkov: Aplikácia zvolenej paradigmy na vybrané bioetické problémy*. 1. vyd. Prešov: Filozofická fakulta Prešovskej univerzity, s. 16 ISBN 978-80-555-0165-9.
54. LEVEQUE, L. a K. KHOSROTEHRANI, 2014. Feto-maternal allo-immunity, regulatory T cells and predisposition to auto-immunity. *Chimerism* [online]. 1.4., roč. 5, č. 2, s. 59-62 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1938-1956. Dostupné z: doi:10.4161/chim.29844
55. LIPSKER, D., E. FLORY, M. L. WIESEL, D. HANAU a H. DE LA SALLE, 2008. Between light and dark, the chimera comes out. *Archives of Dermatology* [online]. 3., roč. 144, č. 3, s. 327-330. ISSN 1538-3652. Dostupné z: doi:10.1001/archderm.144.3.327
56. LOUBIÈRE, L. S., N. C. LAMBERT, L. J. FLINN, T. D. ERICKSON, Z. YAN, K. A. GUTHRIE, K. T. VICKERS a J. L. NELSON, 2006. Maternal microchimerism in healthy adults in lymphocytes, monocyte/macrophages and NK cells. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* [online]. 11., roč. 86, č. 11, s. 1185-1192. ISSN 0023-6837. Dostupné z: doi:10.1038/labinvest.3700471
57. LYONS, D., 2000. Diaries of Despair: Xenotransplantation: The Legal Battle. *Diaries of Despair, The secret history of pig-to-primate organ transplants* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.xenodiaries.org/legal.htm>
58. MALAN, V, M VEKEMANS a C TURLEAU, 2006. Chimera and other fertilization errors. *Clinical Genetics* [online]. 1.11., roč. 70, č. 5, s. 363-373 [cit. 24. február 2015]. ISSN 1399-0004. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-0004.2006.00689.x
59. MASTROCINQUE, A., 2007. The Cilician God Sandas and the Greek Chimaera: Features of Near Eastern and Greek Mythology Concerning the Plague. *Journal of Ancient Near Eastern Religions* [online]. 1.12., roč. 7, č. 2, s. 197-217 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1569-2124. Dostupné z: doi:10.1163/156921207783876413
60. MATSUMOTO, T, K KOMORI, T SHOJI, S KUMA, M KUME, T YAMAOKA, E MORI, T FURUYAMA, Y YONEMITSU a K SUGIMACHI, 2001. Successful and optimized in vivo gene transfer to rabbit carotid artery mediated by electronic pulse. *Gene Therapy* [online]. 8., roč. 8, č.

15, s. 1174-1179 [cit. 25. február 2015]. ISSN 09697128. Dostupné z: doi:10.1038/sj.gt.3301502

61. MCLEAN, S. a L. WILLIAMSON, 2005. *Xenotransplantation: Law and Ethics*. Veľká Británia: Ashgate, s. 121-123, 128. ISBN 9780754623793.
62. MONASH UNIVERSITY, ©2014. About the Centre for Human Bioethics. *Monash University, Centre for Human Bioethics* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://artsonline.monash.edu.au/bioethics/about/>
63. NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 2014. Animal to human transplantation research (Xenotransplantation), Ethical issues and further resources. *Australian Government, National Health and Medical Research Council-NHMRC* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <https://www.nhmrc.gov.au/health-ethics/ethical-issues/animal-human-transplantation-research-xenotransplantation>
64. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2011. Academic Centers and Educational Sites - Bioethics Resources on the Web - NIH. *Bioethics Resources on the Web* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://bioethics.od.nih.gov/academic.html>
65. NATIONAL RESEARCH COUNCIL AND INSTITUTE OF MEDICINE, 2010. *Final Report of The National Academies' Human Embryonic Stem Cell Research Advisory Committee and 2010 Amendments to The National Academies' Guidelines for Human Embryonic Stem Cell Research* [online]. Washington D.C.: The National Academic Press, 58 s. [cit. 3. marec 2015]. ISBN 978-0-309-15600-4. Dostupné z: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=12923&page=R1
66. ONDOK, J. P., 2005. *Bioetika, biotechnologie a biomedicína*. 1. vyd. Praha: TRITON s.r.o., s. 11, 14-24 ISBN 80-7254-486-1.
67. ONISHI, A., M. IWAMOTO, T. AKITA, S. MIKAWA, K. TAKEDA, T. AWATA, H. HANADA a A. C. F. PERRY, 2000. Pig Cloning by Microinjection of Fetal Fibroblast Nuclei. *Science* [online]. 18.8., roč. 289, č. 5482, s. 1188-1190 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.289.5482.1188
68. ORGANIC CONSUMERS ASSOCIATION, 2005. Creating „human-animals" for research. *Organic Consumers Association, Campaigning for Health, Justice, and Sustainability* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: https://www.organicconsumers.org/old_articles/Patent/human-animals.php

69. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, ©2015a. Biotechnology policies, Background to the WHO-Health Canada Electronic Discussion Group on International Xenotransplantation Policy Considerations. *OECD, Better Policies For Better Lives* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.oecd.org/science/biotech/backgroundtothewho-healthcanadaelectronicdiscussiongrouponinternationalxenotransplantationpolicyconsiderations.htm>

70. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, ©2015b. Germany, Regulatory Developments in Xenotransplantation in Germany. *OECD, Better Policies For Better Lives* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.oecd.org/germany/regulatorydevelopmentsinxenotransplantationin germany.htm>

71. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, ©2015c. Biotechnology policies, Regulatory Developments in Xenotransplantation in the United States. *OECD, Better Policies For Better Lives* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.oecd.org/science/biotech/regulatorydevelopmentsinxenotransplantationintheunitedstates.htm>

72. PETR, J., 2003. *Klonování: Hrozba, nebo naděje?*. 1. vyd. Praha, Litomyšl: Paseka, s. 44.47, 133-139, 267 ISBN 80-7185-469-7.

73. PETR, J., 2013. Rodí se tvor s buňkami praseta a člověka, možná „farma“ lidských orgánů. *technet.idnes.cz* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: http://technet.idnes.cz/geneticke-chimery-0m5-veda.aspx?c=A130904_112517_veda_mla

74. PRESIDENTIAL CANDIDATES ORGANIZATION, [s.a]. Stem cell research, Obama position on Stem Cell Research. *2012 Presidential Candidates* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://2012.presidential-candidates.org/Obama/Stem-Cell.php>

75. PRITCHARD, S., H. C. WICK, D. K. SLONIM, K. L. JOHNSON a D. W. BIANCHI, 2012. Comprehensive Analysis of Genes Expressed by Rare Microchimeric Fetal Cells in the Maternal Mouse Lung. *Biology of Reproduction* [online]. 8.1., roč. 87, č. 2, s. 42 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0006-3363, 1529-7268. Dostupné z: doi:10.1095/biolreprod.112.101147

76. RADA EURÓPY, ©2015. Informačné stredisko o Rade Európy v Bratislave | RADAEUROPY.sk » Aktivita. *Aktivita* [online] [cit. 26. február 2015]. Dostupné z: <http://www.radaeuropy.sk/rada-europy/aktivita/>
77. RADA PRO VÝZKUM, VÝVOJ A INOVACE ČR, 2010. Výzva k podávaniu návrhů na členy poradních orgánů Rady pro výzkum, vývoj a inovace. *Rada pro výzkum, vývoj a inovace* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.vyzkum.cz/FrontClanek.aspx?idsekce=572030>
78. RADA PRO VÝZKUM, VÝVOJ A INOVACE ČR, 2011. Statut Bioetické komise Rady pro výzkum, vývoj a inovace. *Rada pro výzkum, vývoj a inovace* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.vyzkum.cz/FrontClanek.aspx?idsekce=675>
79. RADA PRO VÝZKUM, VÝVOJ A INOVACE ČR, ©2013a. Bioetická komise Rady pro výzkum, vývoj a inovace. *Rada pro výzkum, vývoj a inovace* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.vyzkum.cz/FrontClanek.aspx?idsekce=668>
80. RADA PRO VÝZKUM, VÝVOJ A INOVACE ČR, ©2013b. Rada, Základní údaje. *Rada pro výzkum, vývoj a inovace* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.vyzkum.cz/FrontClanek.aspx?idsekce=496>
81. RIGAUD N., 2008. Biotechnology: Ethical and social debates. *OECD International Futures Project on 'The Bioeconomy to 2030: Designing a Policy Agenda*, OECD [online]. s. 79. [cit. 4. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.oecd.org/futures/long-termtechnologicalsocietalchallenges/40926844.pdf>
82. ROSS, C. N., J. A. FRENCH a G. ORTÍ, 2007. Germ-line chimerism and paternal care in marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 4.10., roč. 104, č. 15, s. 6278-6282 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0027-8424, 1091-6490. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0607426104
83. RUBALTELLI, E., P. BURRA, V. SARTORATO, D. CANOVA, G. GERMANI, S. TOMAT, E. ANCONA, E. COZZI a R. RUMIATI, 2008. Strengthening acceptance for xenotransplantation: the case of attraction effect. *Xenotransplantation* [online]. 6., roč. 15, č. 3, s. 159-163. ISSN 1399-3089. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-3089.2008.00474.x
84. SACKS, J., 2007. House of Commons, Memorandum 62, Submission from office of the Chief Rabbi, Sir Jonathan Sacks. *www.parliament.uk* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z:

<http://www.publications.parliament.uk/pa/cm200607/cmselect/cmsctech/272/272we69.htm>

85. SCIENTIFIC COMMITTEE ON MEDICINAL PRODUCTS AND MEDICAL DEVICES, 2001. Opinion on the state of the art concerning xenotransplantation. *Health & Consumer Protection Directorate General, European Commission*[online] [cit. 4. marec 2015]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/scmp/documents/out38_en.pdf
86. SCOBIE, L. a Y. TAKEUCHI, 2009. Porcine endogenous retrovirus and other viruses in xenotransplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 4., roč. 14, č. 2, s. 175-179. ISSN 1531-7013.
87. SIU, E. a A. PLOSS, 2015. Modeling malaria in humanized mice: opportunities and challenges. *Annals of the New York Academy of Sciences* [online]. 11.2. ISSN 1749-6632. Dostupné z: doi:10.1111/nyas.12618
88. SNUSTAD, D. P. a M. J. SIMMONS, 2010. *Principles of Genetics: International Student Version*. 5.edition. Asia: John Wiley& Sons, s. 522-524 ISBN 978-0-470-39842-5.
89. SOBOTKOVÁ, M. a J. BARTUŇKOVÁ, 2008. Monoklonální protilátky a další biologická léčiva užívaná v imunosupresivní léčbě - Přehledy, názory, diskuse - Články - Remedia - farmakoterapeutický časopis. *Remedia* [online]. č. 5/2008 [cit. 26. február 2015]. ISSN 0862-8947. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Clanky/Prehledy-nazory-diskuse/Monoklonalni-protilatky-a-dalsi-biologicka-leciva-uzivana-v-imunosupresivni-lecbe/6-F-jQ.magarticle.aspx>
90. SOLEIMANI, R., E. HEYTENS, R. VAN DEN BROECKE, I. ROTTIERS, M. DHONT, C. A. CUVELIER a P. DE SUTTER, 2010. Xenotransplantation of cryopreserved human ovarian tissue into murine back muscle. *Human Reproduction (Oxford, England)* [online]. 6., roč. 25, č. 6, s. 1458-1470. ISSN 1460-2350. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/deq055
91. STADLBAUER, V., P. STIEGLER, S. MÜLLER, M. SCHWEIGER, M. SEREINGG, K. H. TSCHELIESSNIGG a W. FREIDL, 2011. Attitude toward xenotransplantation of patients prior and after human organ transplantation. *Clinical Transplantation* [online]. 6., roč. 25, č. 3, s. 495-503. ISSN 1399-0012. Dostupné z: doi:10.1111/j.1399-0012.2010.01296

92. STENKAMP, S. H. G., M. S. BECKER, B. H. E. HILL, R. BLAICH a A. FORNECK, 2008. Clonal variation and stability assay of chimeric Pinot Meunier (*Vitis vinifera* L.) and descending sports. *Euphytica* [online]. 26.9., roč. 165, č. 1, s. 197-209 [cit. 25. február 2015]. ISSN 0014-2336, 1573-5060. Dostupné z: doi:10.1007/s10681-008-9807-1
93. STOLÍNOVÁ, J., 2000. Úmluva o ľudských právech a biomedicíne ve vztahu k ČR. *Zdravotnictví a medicína* [online]. 2.6., č. ZDN 22/2000 [cit. 2. marec 2015]. ISSN 1805-2355. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/mlada-fronta-zdravotnicke-noviny-zdn/umluva-o-lidskych-pravech-a-biomedicine-ve-vztahu-k-cr-126955>
94. TAGRA, S., A. K. TALWAR a Rattan Lal Singh WALIA, 2005. Lines of Blaschko. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2., roč. 71, č. 1, s. 57-59. ISSN 0378-6323.
95. TAUPITZ, J. a M. WESCHKA (ed.), 2009. *CHIMBRIDS - Chimeras and Hybrids in Comparative European and International Research: Scientific, Ethical, Philosophical and Legal Aspects*. 1. vyd. Verlag, Berlin, Heidelberg: Springer Science & Business Media, 1039 str. ISBN 978-3-540-93868-2.
96. THE ANSCOMBE BIOETHICS CENTRE, [s.a]. About Us. *Anscombe Bioethics Centre* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: http://www.bioethics.org.uk/page/about_us/default
97. THE COMMITTEE OF MINISTERS OF THE COUNCIL OF EUROPE WORKING PARTY ON XENOTRANSPLANTATION, THE STEERING COMMITTEE ON BIOETHICS a THE EUROPEAN HEALTH COMMITTEE, 2003. Report on the State of the Art in the Field on Xenotransplantation. *Council of Europe* [online]. s. 12, 32, 33, 67-70. [cit. 4. marec 2015]. Dostupné z: http://www.coe.int/t/dg3/healthbioethic/activities/06_xenotransplantation_en/XENO%282003%291_SAR.pdf
98. THE GOVERNMENT OF CANADA, 2006. Xenotransplantation - Biotechnology - Science and Research. *Health Canada* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.hc-sc.gc.ca/sr-sr/tech/biotech/about-apropos/xeno-eng.php>
99. THE NOBEL FOUNDATION, 2012. Shinya Yamanaka - Biographical. *Nobelprize.org, The Official Web Site of the Nobel Prize* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z:

http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2012/yamanka-bio.html

100. THE ROMAN CURIA, 2001. Pontifical Academy For Life, Prospects for Xenotransplantation - Scientific Aspects and Ethical Considerations. *La Santa Sede* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: http://www.vatican.va/roman_curia/pontifical_academies/acdlife/documents/rc_pa_acdlife_doc_20010926_xenotrapianti_en.html
101. TÓTH, D. et al., 2007. *Biologická bezpečnosť*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, s. 186 ISBN 978-80-8069-846-1.
102. TRAN, S. D., R. S. REDMAN, A. J. BARRETT, S. Z. PAVLETIC, S. KEY, Y. LIU, A. CARPENTER, H. M. NGUYEN, Y. SUMITA, B.J. BAUM, S. R. PILLEMER a E. MEZEY, 2011. Microchimerism in salivary glands after blood- and marrow-derived stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* [online]. 3., roč. 17, č. 3, s. 429-433. ISSN 1523-6536. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbmt.2010.09.021
103. UNESCO, [s.a]. International Bioethics Committee | United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization. *UNESCO » Social and Human Sciences » Bioethics* [online] [cit. 2. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.unesco.org/new/en/social-and-human-sciences/themes/bioethics/international-bioethics-committee/>
104. VÁCHA, M., R. KÖNIGOVÁ a M. MAUER, 2012. *Základy moderní lékařské etiky*. 1. vyd. Praha: Portál, s.r.o, s. 35, 56, 209-217 ISBN 978-80-7367-780-0.
105. VALDÉS-GONZÁLEZ, R. A., L. M. DORANTES, G. N. GARIBAY, Eduardo BRACHO-BLANCHET, A. J. MENDEZ, R. DÁVILA-PÉREZ, R. B. ELLIOTT, L. TERÁN a D. J. G. WHITE, 2005. Xenotransplantation of porcine neonatal islets of Langerhans and Sertoli cells: a 4-year study. *European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* [online]. 9., roč. 153, č. 3, s. 419-427. ISSN 0804-4643. Dostupné z: doi:10.1530/eje.1.01982
106. WAGNER, S. a N. PEREZ, 2010. Social, Political, and Economic Impact. *Christian Brothers High School - Xenotransplantation - Yola* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://thetransplanters.yolasite.com/social-political-and-economic-impact.php>

107. WASZAK, M., K. CIEŚLIK, K. WIELGUS, R. SŁOMSKI, M. SZALATA, M. SKRZYPCZAK-ZIELIŃSKA, J. KEMPIAK a G. BRĘBOROWICZ, 2013. Microchimerism in twins. *Archives of Medical Science: AMS* [online]. 30.12., roč. 9, č. 6, s. 1102-1106 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1734-1922. Dostupné z: doi:10.5114/aoms.2013.39212
108. WEBSTER, N. R., 1998. Animal tissues into humans. *British Journal of Anaesthesia*. 3., roč. 80, č. 3, s. 281-282. ISSN 0007-0912.
109. WGBH EDUCATIONAL FOUNDATION, ©1995-2014. The Business of Xenotransplantation, past and present. *PBS, Frontline* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.pbs.org/wgbh/pages/frontline/shows/organfarm/business/business.html>
110. WOLINSKY, H., 2007. A mythical beast. Increased attention highlights the hidden wonders of chimeras. *EMBO Reports* [online]. 3., roč. 8, č. 3, s. 212-214 [cit. 25. február 2015]. ISSN 1469-221X. Dostupné z: doi:10.1038/sj.embor.7400918
111. WORLD HEALTH ORGANIZATION, ©2015a. Transplantation, Xenotransplantation. *WHO-World Health Organization* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.who.int/transplantation/xeno/en/>
112. WORLD HEALTH ORGANIZATION, ©2015b. Transplantation, GKT4 Xenotransplantation. *WHO-World Health Organization* [online] [cit. 3. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.who.int/transplantation/gkt/xenotransplantation/en/>
113. Zákon č. 373/2011 Sb., o specifických zdravotních službách. *Česká republika*. [online] [cit. 4. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2011-373>
114. Zákon č. 227/2006 Sb., o výzkumu na lidských embryonálních kmenových buňkách a souvisejících činnostech a o změně některých souvisejících zákonů. *Česká republika*. [online] [cit. 4. marec 2015]. Dostupné z: <http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2006-227>
115. ZIMMER, C., 2007. In the Marmoset Family, Things Really Do Appear to Be All Relative. *The New York Times* [online]. 27.3. [cit. 3. marec 2015]. ISSN 0362-4331. Dostupné z: <http://www.nytimes.com/2007/03/27/science/27marm.html>